



PCT

特許協力条約に基づいて公開された国際出願

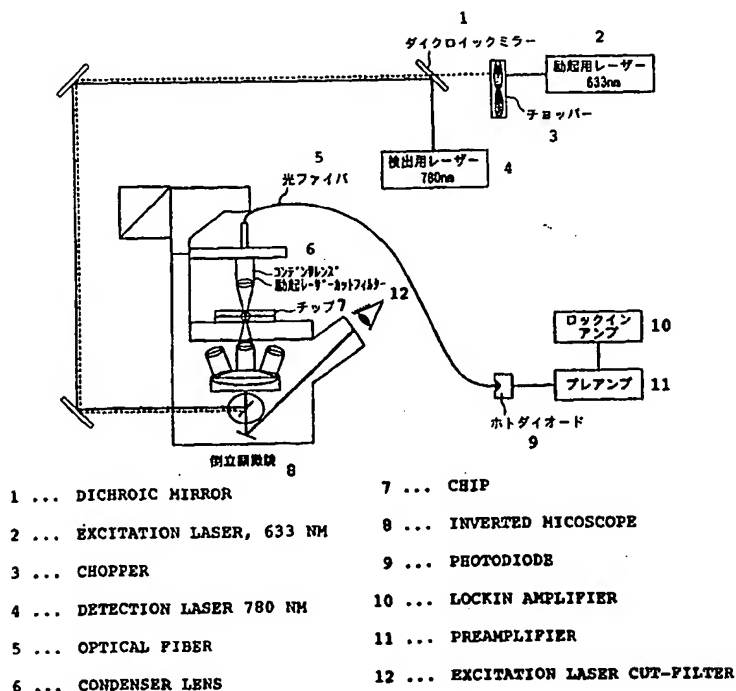
<p>(51) 国際特許分類6 G01N 25/16, 27/447</p>	<p>A1</p>	<p>(11) 国際公開番号 WO99/64846</p> <p>(43) 国際公開日 1999年12月16日(16.12.99)</p>
<p>(21) 国際出願番号 PCT/JP99/03158</p> <p>(22) 国際出願日 1999年6月14日(14.06.99)</p> <p>(30) 優先権データ 特願平10/181586 1998年6月12日(12.06.98)</p> <p>(71) 出願人 (米国を除くすべての指定国について) 旭化成工業株式会社 (ASAHI KASEI KOGYO KABUSHIKI KAISHA)[JP/JP] 〒530-8205 大阪府大阪市北区堂島浜1丁目2番6号 Osaka, (JP)</p> <p>(72) 発明者; および (75) 発明者/出願人 (米国についてのみ) 下出浩治(SHIMOIDE, Koji)[JP/JP] 〒416-0939 静岡県富士市川成島100 旭化成第五富士寮408 Sizuoka, (JP) 木口 昌(KIGUCHI, Akira)[JP/JP] 〒232-0064 神奈川県横浜市区別所3-5-25-501 Kanagawa, (JP) 向山滋美(MUKAIYAMA, Shigemi)[JP/JP] 〒233-0016 神奈川県横浜市区金沢区谷津町141-27 Kanagawa, (JP)</p>	<p>黒川 洋(KUROKAWA, Hiroshi)[JP/JP] 〒416-0939 静岡県富士市川成島100 旭化成西アパート856 Sizuoka, (JP)</p> <p>(74) 代理人 森 哲也, 外(MORI, Tetsuya et al.) 〒101-0045 東京都千代田区神田鍛冶町三丁目7番地 村木ビル8階 日栄国際特許事務所 Tokyo, (JP)</p> <p>(81) 指定国 AE, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, CA, CH, CN, CU, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MD, MG, MK, MN, MW, MX, NO, NZ, PL, PT, RO, RU, SD, SE, SG, SI, SK, SL, TJ, TM, TR, TT, UA, UG, US, UZ, VN, YU, ZA, ZW, 欧州特許 (AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE), OAPI特許 (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG), ARIPO特許 (GH, GM, KE, LS, MW, SD, SL, SZ, UG, ZW), ユーラシア特許 (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM)</p> <p>添付公開書類 国際調査報告書</p>	

(54) Title: ANALYZER

(54) 発明の名称 分析装置

(57) Abstract

An analyzer characterized by comprising a chip and a detector, wherein the chip is an organic polymer member having a fine capillary through which a fluid sample or a fluid sample and a fluid reagent flow and can perform a chemical reaction on the sample in the capillary without using a separate weighing means, and the detector is a photo-thermal conversion detector for measuring a physical quantity change such as a refractive index change caused by a partial temperature change of the sample and the reagent by applying an excitation light to a substance to be measured produced by the chemical reaction, thereby providing a small analyzer excellent in chip waste-disposal, capable of analyzing inexpensively, simply and in a short time and being suitable for a POC analysis.



本発明の分析装置は、チップと検出装置とからなることを特徴とする。

前記チップは、流動体状の試料、もしくは、流動体状の試料および流動体状の試薬が流れる微細なキャピラリを有する有機ポリマー製の部材であって、別途秤量する手段を用いることなくキャピラリ内の試料に対し必要な化学反応等を行い、また、前記検出装置は、化学反応等により生じた被測定物に励起光を照射し、前記試料、もしくは、前記試料および前記試薬の部分的な温度変化に伴う物理量変化、例えば屈折率変化を計測する光熱変換検出装置である。

本発明によれば、チップの廃棄性に優れ、安価で簡便かつ短時間に分析ができ、P O C分析等に適した小型の分析装置を提供できるものである。

PCTに基づいて公開される国際出願のパンフレット第一頁に掲載されたPCT加盟国を同定するために使用されるコード(参考情報)

AE アラブ首長国連邦	DM ドミニカ	KZ カザフスタン	RU ロシア
AL アルバニア	EE エストニア	LC セントルシア	SD スーダン
AM アルメニア	ES スペイン	LI リヒテンシュタイン	SE スウェーデン
AT オーストリア	FI フィンランド	LK スリ・ランカ	SG シンガポール
AU オーストラリア	FR フランス	LR リベリア	SI スロヴェニア
AZ アゼルバイジャン	GA ガボン	LS レント	SK スロヴァキア
BA ボスニア・ヘルツェゴビナ	GB 英国	LT リトアニア	SL シェラ・レオネ
BB バルバドス	GD グレナダ	LU ルクセンブルグ	SN セネガル
BE ベルギー	GE グルジア	LV ラトヴィア	SZ スワジランド
BF ブルキナ・ファソ	GH ガーナ	MA モロッコ	TD チャード
BG ブルガリア	GM ガンビア	MC モナコ	TG トーゴ
BJ ベナン	GN ギニア	MD モルドヴァ	TJ タジキスタン
BR ブラジル	GW ギニア・ビサオ	MG マダガスカル	TZ タンザニア
BY ベラルーシ	GR ギリシャ	MK マケドニア旧ユーゴスラヴィア	TM トルクメニスタン
CA カナダ	HR クロアチア	共和国	TR トルコ
CC 中央アフリカ	HU ハンガリー	ML マリ	TT トリニダード・トバゴ
CG コンゴ	ID インドネシア	MN モンゴル	UA ウクライナ
CH スイス	IE アイルランド	MR モーリタニア	UG ウガンダ
CI コートジボアール	IL イスラエル	MW マラウイ	US 米国
CM カメルーン	IN インド	MX メキシコ	UZ ウズベキスタン
CN 中国	IS アイスランド	NE ニジェール	VN ヴェトナム
CR コスタ・リカ	IT イタリア	NL オランダ	YU ユーゴスラビア
CU キューバ	JP 日本	NO ノールウェー	ZA 南アフリカ共和国
CY キプロス	KE ケニア	NZ ニュー・ジーランド	ZW ジンバブエ
CZ チェッコ	KG キルギスタン	PL ポーランド	
DE ドイツ	KP 北朝鮮	PT ポルトガル	
DK デンマーク	KR 韓国	RO ルーマニア	

明 細 書

分析装置

5 技術分野

本発明は、微量試料の分析、検出を簡便に行う分析装置に関する。

背景技術

医療診断に必要な測定を患者近傍で行うベッドサイド診断用の分析（
10 P O C（point of care）分析）や、河川や廃棄物中の有害物質の分析
を河川や廃棄物処理場等の現場で行うことや、食品の調理、収穫、輸入
の各現場における汚染検査等の、分析・計測が必要とされる現場、もし
くは現場の近傍で、分析・計測を行うこと（以下、「P O C分析等」と
総称する）の重要性が注目されており、近年、このようなP O C分析等
15 に適用される検出法や装置の開発が重要視されつつある。このようなP
O C分析等は、簡便に短時間で、且つ低コストで行われることが要求さ
れる。

従来の微量分析法としては、試料を、キャピラリガスクロマトグラフ
ィー（C G C），キャピラリ液体クロマトグラフィー（C L C）等で分
20 離した後、質量分析計で定量するG C M S装置やL C M S装置が広く使
用されてきた。しかしながら、これらの分析装置は質量分析計が大きい
こと、および操作が煩雑であることから、患者のベッドサイドや汚染河
川、廃棄物処理場近辺等の測定現場で使用するのには適さない。さらに、
血液等を試料とする医療診断用途の分析装置は、試料が触れる部分を使
25 い捨てにすることが望ましい。

これらの問題点を解決するために、従来利用されてきた分析装置を小

型化し、かつ電気泳動を実施するためのキャピラリを含む数 cm 角程度の大きさのチップを用いて、試料の分離や反応を行って、微量分析を簡便に行うことを目指した μ T A S (micro total analysis system) と総称される分析法の概念が提唱されている (Sensors and Actuators, B1 (5 1990), 244-248, A. Manz 他)。この μ T A S は、試料の量、成分の検出に必要な試薬の量、検出に用いた消耗品等の廃棄物や廃液の量がいずれも少なくなる上、検出に必要な時間も短時間で済むという利点がある。

μ T A S は、上述のチップ、分析手段に加えて、チップ内での液体、気体（以下、「流動体」と称する）などからなる試料、試薬類の搬送のため
10 的手段、さらにそれらの反応などを行わせるための手段、などから構成され、それぞれについて研究が進められている。しかし、それぞれ後述のような問題点があり、これらを組み合わせた総合的な μ T A S は、いまだ完成されていないのが現状である。

例えば、キャピラリを形成する材質は、高い精度で微細加工ができる
15 ガラスやシリコンが一般的であるが（日本国特許公開公報 平成 2 年第 2 4 5 6 5 5 号など）、加工コストが高く、また、割れやすく取り扱いに注意を要する等の問題も有する。さらに、前記のように医療診断用途などでは、血液等の患者由来の試料が触れるので、チップはディスプレイにする事が望ましいが、ガラスやシリコン等の素材は不燃物であり
20 り廃棄処理上も問題を有する。このようなガラスやシリコン等を用いる際の問題点の改善を目指した研究として、樹脂でチップを作成する方法（R M Mccormick et. al. / Anal. Chem. Vol. 69, No. 14 (1997) 2626-2630、日本国特許公開公報 平成 2 年第 2 5 9 5 5 7 号、日本国特許 第 2 6 3 9
25 0 8 7 号 (97.4.25 登録、島津製作所)）も提案されている。その樹脂チップの製作法としては、まず、半導体の微細加工技術を応用して Si-W

afer表面を加工した後、Niを電鍍しSiを溶解等により除去して樹脂加工のマスターを製作し、そして、前記マスターを母型として、アクリル樹脂等を射出成形してチップを成形する方法等がある (Analytical Chemistry 69, 2626-2630 (1997) (Aclara Biosciences))。

- 5 このように、樹脂製のチップは廃棄性、量産性などに優れているが、ガラスやシリコン等のチップと同様に、そのチップ内の物質を検出する手段として、従来の検出装置で利用される蛍光法、吸光度法などを採用する場合は、以下に述べる課題を包含している。

以下に、検出装置を中心に従来技術をさらに説明する。

- 10 キャピラリ内を流れる試料の分析方法は、蛍光分光法 (例えばS. C. Jacobson, et. al., Anal. Chem. Vol. 66, 4127-4132, 1994、日本国特許公開公報 平成2年第245655号、吸光度法 (例えばN. Kuroda, et. al., J. Chromatogr., Vol. 798, 325-334, 1998)、化学発光法 (例えばM.F. Regehr, et. al., J. Capillary Electrophor, Vol. 3, 117-124, 1996) などが一般的である。

- 15 上記のうち、化学発光法、蛍光法は、被検出物質が酸化剤などの触媒の存在により励起状態の化合物となり、この状態から、基底状態になる時のエネルギー (蛍光法の場合は励起化合物と共存するエネルギー受容体にエネルギーをトランスファーし、この受容体の励起状態から基底状態へ移る時のエネルギー) が光として放出されるのを検出するものである。一方、吸光度法は、被検出物質を含む溶液に光を入射し透過光強度を測定し、その入射光強度に対する透過光強度の比を求めるものである。感度的には一般に吸光度法、蛍光法、化学発光法の順に高感度といわれる。

- 25 主な化学発光反応としては、ルミノール、ルシゲニンなどによる方法が古くから知られている。また、化学発光反応は、迅速で高感度である、

検出に光源を必要としないので装置が比較的安価である、などの利点を有するが、発光の減衰が急速であり、使用する試薬が不安定、バックグラウンドが高いなどの欠点を有する。

5 蛍光法も同様に反応系が古くから知られている利点はあるが、光学系として励起光光源や励起光と蛍光とを分離する光学フィルターなどが必要となる。

また、これらの発光現象を利用する方法では、放射される光が四方に発散するため受光効率が良くないという問題点がある。蛍光法の場合は、
10 蛍光を発する収率が低いこと、および測定対象物質を限られた蛍光物質へ変換する反応系の構築が必要であることから、汎用性が高くない。

特に、医療診断のための臨床検査においては、学会などが定めた標準分析法での測定値に統一していく方向であるので、大幅な測定系の変更は問題を惹起する可能性がある。

また、吸光度法は、原理的に入射光と透過光との比を検出するため、
15 高精度の結果を得るためには光路長を長くとる必要があり、特に微量試料を検出するためには長光路を得るため検出セルの構造が複雑となる欠点を有する。

このように、キュベットなどを使用する従来の吸光度法や蛍光法での検出は、比較的小型の装置で可能であるが、POC分析等への応用を目指す、
20 キャピラリを備えたチップでの測定は、キャピラリの径が小さくなるため短い光路長しか取ることができず、低い感度しか得られない。

光路長を長く取るために、キャピラリに垂直に光をあてるのではなく、流れ方向に光を当てる方法も提案されている（例えば 日本国特許公開
公報 平成8年第304339号）が、平面チップに形成されたキャピ
25 ラリでは、流れ方向の検出は容易ではなく、チップ構造および検出部の構造が複雑になるという問題を有する。

微量成分の別の検出法として、励起光で液体中の試料を励起して、いわゆる熱レンズを形成させ、検出光でその熱レンズの変化を測定する光熱変換検出法（熱レンズ検出法）が以前から知られている（日本国特許公開公報 昭和60年第174933号、A. C. Boccara et al., Appl. Phys. Lett. 36, 130, 1980）。

光熱変換検出法では、励起光により $0.1\ \mu\text{m} \sim 1\text{mm}$ 程度の厚みの熱レンズを形成させる。光路長が十分長く、たとえば1cm程度に取れる場合には、光熱変換検出法は吸光度法や蛍光法に比べて、励起光と検出光との通常2種の光源が必要なことから一般には用いられていない。また、励起光、検出光は通常、同軸にしてキャピラリーに入射されるので、装置を複雑化させる要因となっている。ただし、二本のレーザーを同軸にせず、交差もしくは対向させる方法（J. Liquid Chromatography 12, 2575-2585 (1989)、日本国特許公開公報 平成10年第142177号（分子ハイトニクス））や、一本のレーザーを分岐して使用し、光熱変化による焦点位置変化そのものを検出しているもの（日本国特許公開公報 平成4年第369467号（横河電機））も提案されている。

ArレーザーとHe-Neレーザーとを用いた光熱変換検出法の例として、ガラス平板の上に試料を載せ、別のもう一枚のガラス板ではさみ込むもの（Anal. Chem. 65, 2938-2940 (1993)）が有る。

さらに、キャピラリーを備えた平板チップの外部からポンプにより送液する分析装置に適用した例もある。（ぶんせきNo. 4, 280-284, 1997、M. Harada, et al., Anal. Chem. Vol. 65, 2938-2940, 1993、川西, 他 日本分析化学会第44年会講演要旨集, p119, 1995など）。

これらの光熱変換検出法は、「分子を何個検出できるか」と言った局

所での絶対感度の向上を主目的としている。したがって、できるだけレーザを絞って、小さな体積に励起光を集中させて、その微小空間に生じる熱レンズを検出する方法が主である。

また、これらの例の中にはチップ内に、反応槽，流体制御素子，検出部などの化学反応系を集積する構想を示したもの（日本機械学会誌 100, 615-617 (1997)、センサ・アクチュエータ/ウィーク'97総合シンポジウム要旨集「マイクロセンサ」Session 3, P19-P23 (1997, 4. 17)）も見られる。さらに、これらの例では、キャピラリを形成するため、その表面に溝を刻む素材としてガラスが使われている。

チップの素材としてシリコンやガラスを使用する場合は、ガラス、石英もしくはSi基板にエッチング保護膜（Cr等）を真空蒸着等の方法で数千オングストロームの厚さに製膜し、その上にパターンングレジストをスピナーを用いて塗布する。その後、フォトリソ用マスクを用いて、紫外光にてレジストを露光し、続いて現像（未硬化部分を溶剤で除去）して所望の形状にパターンングする。次に、パターンングされたレジストをエッチングマスクとして、エッチング保護膜をフェリシアン化カリウム水溶液等で溶解除去しパターンングする。続いて、パターンングされたレジストおよびエッチング保護膜をマスクとして、基板を例えば弗酸水溶液にてエッチングして溝を形成する。その後、レジストおよび保護膜をエッチング除去する。また、上記基板とは別に、超音波加工等の方法で貫通孔を開けたガラス等の基板を準備する。最後に、溝加工された基板と貫通孔を開けられた基板とを溝を内側にして合わせ、例えば、真空炉中にて加熱（ガラス基板同士の場合には、600度程度に数時間加熱）した後、自然冷却することで融着し作ることができる。

以上述べたように、ガラスでは、チップを作るためには、半導体集積回路を作る技術を発展させた方法（フォトリソグラフィ技術とエッチ

ング技術との組み合わせ)により、1枚ずつ、平板ガラス上に溝を形成しなくてはならない。また、製造工程において、多くの有害な薬品を使用すると共に、製造工程が長く、また半導体製造等に用いられる高価な大型設備を必要とする。さらに、ガラス製の前記チップは、割れ易く取り扱いに注意を要する等の問題も有する。

そしてさらに、医療診断用途などでは、血液等の患者由来の試料が触れることもあり、前記チップはディスポーザブルにすることが望ましいが、ガラス素材は不燃物であり廃棄処理上も問題を有する。このため、安価であることが求められるPOC分析等への応用には適さない。

一方、医療診断のために、血液、尿、髄液など生体に由来する試料中の様々な物質について、その濃度を定量的に、あるいは定性的に検出することが広く行われている。生体に由来する試料中の検出対象としては、GOT、GPT、 γ -GTP、ALPなどの酵素活性や、トータルコレステロール、トリグリセライド、グルコース、ヘモグロビンA1c (HbA1c)、さらには、クレアチニンカイネース、C反応性蛋白 (CRP)、サイトカイン類等の蛋白、また、菌やウイルス由来の抗原やそれに対する抗体等があげられる。

これらの検出対象物質の検出は、試料と、検出対象物質に特異的な酵素や抗体とを反応させることにより、検出対象物質を、最終的に、吸光度、蛍光、化学発光などで検出できる物質（発色色素、蛍光物質、発光物質など）に変換し、その最終物質を定量することで行っている (Ogawa, Z., ら 臨床検査, 41:981 (1997), Kanno, T. 臨床検査, 42:309 (1998))。

これらの検出反応は、試料と1種類以上の試薬溶液を、各々一定量ずつ量り取って混合し、一定時間所定温度で反応させることによって行われる。

大病院の中央検査室や、検査会社で採用されている自動分析機では、自動ピペットにより、一定の体積または重量の試料および試薬溶液が各

々量り取られる。また、手作業による分析でも、検査者がピペットや定量キャピラリなどで一定量を量り取っている。

食品の汚染検査もほぼ同様である（日本国特許公開公報 平成4年第64063号、食品汚染菌の検出法）。

- 5 環境汚染物質を定量する場合も、河川水や土壌抽出物を試料として、種々の試薬を反応させ、対象物質を検出することが多い（日本国特許公開公報 平成9年第72898号、土壌の分析方法）。

このような検出のための反応をチップの中で行う、すなわち、チップ内で何らかの反応試薬や標識試薬と試料とを混合して反応させ、その反応後の試料を分析する方法としては、以下のような方法がある。

- 10 その一つは、試料および試薬溶液の所定量を、チップ外で量り取ってからチップ内に注入する方法である。また、チップ内にメスシリンダーのような所定体積の流路（液溜）を設けて、ポンプとバルブとの組み合わせにより、または電界印加により精度良く送液を制御することにより、
- 15 試料および試薬溶液をチップ内で量り取って混合する方法（例えば A.M. Manz et al., Trends Anal. Chem., Vol.10, 144, 1991）もある。さらに、試料と試薬溶液とを反応チャンバーに流し込み、混合して反応させた後、一定量を量り取って成分を分離し、分離した各成分を定量分析している（ S.C.Jacobson et.al., Anal. Chem., Vol.6, 4127, 1994）方法
- 20 法もある。いずれの方法においても、試料および試薬溶液、または、その混合物を量り取る工程が必要であり、一定流量比で連続的に送液しながら分析する方法は提案されていない。

- 一方、秤量操作をすることなく、所定の比率で二液を混ぜ合わせる概念も提案されている（US5785831 (HP) 、日本国特許公開公報 平成8年第261986号 (US5785831の日本国内特許) ）。しかし、単純に分岐流路で二液を混合するものであって、連続的に所定の化学反応を行い、特
- 25

定の物質の検出に用いるという概念は含まれていない。同様に、互いに所定の流速で接する二つの層流間で、その界面付近での相互作用を利用する方法も提案されている（W09739338、USP5716852、W09747390）。しかしこの場合も、基本的にそれぞれに含まれる粒子、分子のサイズの
5 違いによる拡散速度の違いを利用して、必要な分子、粒子のみを抽出、もしくは計測する手段であって、所定の化学反応を実施するものではない。

また、秤量操作をすることなく必要な化学反応を行う例（J. Micromech. Microeng. 4, 246-256 (1994)、Verpoorte E. M. J., // Manz A., de Rooij N. F. INTERFACIAL DESIGN AND CHEMICAL SENSING Chapter 21
10 p244-254, America Chemical Society (1994)）もある。すなわち、溝をその表面に有するシリコン製のチップを複数枚重ねてキャピラリを形成し、そのキャピラリにポンプにより反応試薬液を一定流速で送液することにより、そのキャピラリ中で試料液と反応試薬液とを所定の比率で
15 混合および反応させるものである。

しかしながらこの方法は、所定の比率で試料液と反応試薬液とを混ぜ合わせるだけであり、実際の実施工程としては、混合槽に所定の比率で試料液と反応試薬液とを投入するバッチ式と大差はない。

さらに、このようなチップを複数枚重ねた構造では、流路は三次元構造なので、流路を順次遡って種々の反応時間において測定値を得ることは難しい。すなわち、酵素反応のエンドポイントでの定量はできるが、
20 反応速度から酵素量を求めるレイトアッセイでの定量は困難である。

分析装置については、キャピラリを備えたチップが提案されるなど、近年はPOC分析等を目指した研究開発が行われている。しかし、上述
25 のように、キャピラリを備えたチップの材質は、高い精度で微細加工が可能なガラスやシリコンが一般的である。そのため、加工コストが高く、

また、割れやすく取り扱いに注意を要する等の問題もある。さらに、医療診断用途などでは、血液等の患者由来の試料が触れることもあり、キャピラリを備えたチップはディスポーザブルにすることが望ましいが、ガラス素材は不燃物であり廃棄処理上も問題を有する。

- 5 また、流路装置と検出装置とを合わせた分析装置として考えた場合、発光現象を利用する方法では、放射される光が四方に発散するため受光効率が良くない。

- 発光現象を利用するものの内、化学発光反応は迅速で高感度であり、検出は光源を必要としないので装置が比較的安価であるなどの利点を有するが、発光の減衰が急速であり、試薬が不安定、バックグラウンドが高いなどの欠点を有する。
- 10

 また、蛍光法も同様に反応系が古くから知られている利点はあるが、光学系として励起光光源、励起光と蛍光とを分離する光学フィルターなどが必要となる。

- 15 さらに、蛍光法は、蛍光を発する収率が低いなどの理由から、本発明で用いられるような微細なキャピラリ内の微量試料の検出を行う場合には適していない。

- また、吸光度法は、原理的に入射光と透過光との比を検出するため、高精度の結果を得るためには光路長を長くとる必要があり、特に微量試料の検出のためには長光路を得るため検出セルの構造が複雑となる欠点を有する。
- 20

- このように、本発明で用いられるような微細なキャピラリ内の微量試料を検出する分析装置において、取り扱いが容易で、経済性に優れ、且つ、高感度分析が可能で、さらに、小型化が可能な分析装置はなく、P
25 OC分析等に適した分析装置が望まれているのが現状である。

 一方、血漿のみを用いて固体試薬（試薬の凍結乾燥品、または紙や織

維に試薬を所定量含浸させたもの等）を試料に溶解することにより、血糖値などを検出できる検出紙も市販されている。このような固体試薬は、試薬を量り取る必要がなく簡便ではあるが、液状の試薬と比較して定量精度に劣るという問題がある。

- 5 さらに、検出のための反応を行うために、試料および試薬をチップ外で量り取りチップに注入する方法では、手間がかかる上、チップ以外に廃棄物が生じる。また、人間が試料および試薬を量り取らない場合は、チップ外に秤量システムが必要となるため、装置全体が大がかりとなる。さらに、チップ内に試料および試薬を量り取るための流路を設ける必要
- 10 があるので、チップ内の流路が複雑となり、高コストとなる。また、チップ内外を問わず、試料および試薬を量り取る操作が入ると、分析の工程が複雑になるという欠点を有している。さらに、従来の技術は、バッチ式の試料処理や検出であるため、連続的かつ時間を精密に制御する必要のある各工程のタイミングを合わせる手段が別途必要となる。

15

発明の開示

- 本発明の分析装置は、取り扱いが容易で、複雑な構造を有し得て、安全性、廃棄性に優れ、かつ量産性にも優れるキャピラリを備えたチップと、小型化が容易で、かつ微量成分の高感度検出が可能な検出装置と
- 20 らなる。そして、試料や試薬の秤量などを別途行うことなく、チップのキャピラリ内のみで所定の混合や化学反応を行い、さらに全工程に渡って各工程の微妙なタイミング合わせの必要のない、操作性に優れた、コンパクトで安価な分析装置の提供を目的としたものである。

- 本発明は、流動体が流れるキャピラリを備えたチップの基材として、
- 25 少なくとも一部に有機ポリマーを用いている。寸法精度が良好に成形される有機ポリマー製のチップは、微量分析に適するとともに、安価に製

造することが可能であり、さらに焼却により容易に廃棄処理することができ、ディスプレイ用のチップとして有用である。さらに言えば、取り扱いが容易で、複雑な構造を有し得て、安全性に優れ、かつ量産性にも優れる。

- 5 また、本願発明においては、有機ポリマー製チップに形成されたキャピラリ中の、流動体状の試料および流動体状の試薬の流量を各々所定の値に制御し、連続的に流すことで、流動体状の試料と流動体状の試薬とを所定の流量比率で合流させる。合流の後、所定の流速下において、混合、反応に必要な時間流すのに必要かつ十分な長さのキャピラリを与える
- 10 ことで、混合、希釈、化学反応など所定の操作を行う。この手段により、複数の流動体の混合、希釈など所定の操作を、秤量を（チップ内外を問わず）行うことなく実施でき、必要な化学反応などを精度良く、簡便に、さらに全工程に渡って各工程の微妙なタイミング合わせの必要なく実施することを可能とした。
- 15 また、上記手段により生成された反応後の生成物に対して、対物レンズ等で絞った励起光を照射すると、励起、吸収による部分的な温度変化（光熱変換効果）に伴う物理量変化、より具体的には屈折率変化を生じる。この屈折率変化を、励起光に加えて照射される検出光などを用いて計測する検出装置（熱レンズ検出装置）を本装置に備えることにより、
- 20 従来技術では、チップの上下幅程度（角度は必ずしもチップ面に垂直である必要はない）、すなわち、溝の深さ程度（1～1000 μm 程度）の短い光路長のため計測が困難であった被検出物の濃度などの測定が可能となった。

- 25 しかし、従来用いられた熱レンズ検出法は、微小空間の物質を検出する汎用法であるが、分子数を最低いくつから検出できるかという絶対感度を高めるために、励起光を対物レンズなどでできる限り絞って試料溶

液に集光し、形成される熱レンズの厚みが小さくなるようにしている。

例えば、従来の熱レンズ検出法のうち、川西他による「ガラス基板上のマイクロチャネルと顕微熱レンズ分光法を用いた集積化液相化学分析システムの開発（Ⅰ）」（日本分析化学会第44年会講演要旨集p119, 1995）では、顕微鏡の倍率を70倍にすることにより焦点付近での励起光のビーム径は約4 μm になり、倍率を280倍にすれば励起光のビーム径をサブミクロンにまで絞ることができると記載されている。しかしながら、このような従来の熱レンズ検出法では、試料溶液の一定体積あたりの物質量を定量するという濃度感度は低い。

10 医療診断や環境分析などでは、絶対感度ではなく濃度感度が高いことが重要である。そこで、本発明者らは、従来の熱レンズ検出法とは異なり、励起光の集光度を下げ、流路断面積程度に熱レンズを広げることにより濃度感度を上げ、安定した電気浸透流が可能な程度の小断面積のキャピラリーにおいても、高感度で物質を検出できることを見出した。

15 また、キャピラリーを備えた有機ポリマー製チップを上述の熱レンズ検出装置に適用した際、チップの材質によって、熱レンズ検出法による出力のバックグラウンド信号の増大がみられることがあった。従来用いられてきたガラス素材の場合、熱レンズ検出法に用いられるレーザー（例えばHe-Ne レーザー（波長：633nm）、Arレーザー（波長：488nm）、半
20 導体レーザー（例えば波長：780nm））の反射分を除いた透過率が、99%以上のものや、ほとんど100%に近いものを通常の流通品として入手することは容易である。したがって、熱レンズ検出法を実施する上で問題が発生することはなかった。

しかし、有機ポリマーに関しては、通常の流通品は添加剤、可塑剤、
25 安定化剤などが加えられており、ガラスのように高い透過率を持つものは一般的ではない。そのため、熱レンズ検出装置に適用できる有機ポリ

マー基材には制限のあることが判った。特に、熱レンズ検出装置に対し大きな影響を与えるのは、励起光などの光路における励起光などの吸収である。そこで、実験により、その吸収量の許容範囲を取得した。

すなわち、本発明に係る分析装置は、キャピラリ内に流動体状の試料
5、もしくは、流動体状の試料および流動体状の試薬を流して、前記試料中、もしくは、前記試料および前記試薬の混合流動体中の所定成分を分析する分析装置であって、少なくとも一部が有機ポリマーにより構成され、前記キャピラリを備えたチップと、前記所定成分に励起光を照射して、その結果生じる前記キャピラリ内の部分的な温度変化に伴う物理量
10変化を測定する光熱変換検出装置と、からなることを特徴とする。

なお、本発明における流動体とは、液体、気体の他、流動性を有する物を意味する。

また、キャピラリ内に流す流動体状の試料は、試料のみを流してもよいし、混合したものが流動体であれば、流動体状のキャリアと混合して
15流してもよいし、流動体状の試薬と混合して流してもよい。

混合は前もって行ってからキャピラリに供給してもよいし、それぞれ個別にキャピラリに供給し、キャピラリ内で混合してもよい。

前記チップは、少なくとも一方がその板面に溝を備え、少なくとも一方が有機ポリマー製である一対の平板状部材を、前記溝を備えた板面を
20内側にして張り合わせるにより構成することができる。

なお、前記の一対の平板状部材は、その両方が有機ポリマー製であってもよいし、あるいは、その一方のみが有機ポリマー製であってもよい。ただし、前記溝を備えた平板状部材は、有機ポリマー製であることが望ましい。

25 また、前記物理量変化を屈折率変化とすれば、前記光熱変換検出装置は、前記屈折率変化により形成される熱レンズに検出光を入射させ、前

記熱レンズにより生じる前記検出光の変化を測定する装置とすることができる。

前記チップを構成する部材は、前記励起光を吸収することによっては、実質的に光熱変換効果を生じないことが望ましい。

- 5 例えば、前記チップを構成する部材は、前記励起光の吸収率が5%以下であることが望ましい。

さらに、前記キャピラリ内の部分的な温度変化が、前記所定成分を分析するのに十分な濃度感度を得られるような範囲に生じるように、前記励起光の集光度が調整してあることが望ましい。

- 10 ただし、前記励起光の光軸は前記試料または前記混合流動体の流れ方向に垂直であり、かつ、前記キャピラリ内の部分的な温度変化を、前記流れ方向に垂直で前記光軸を含む断面において、前記所定成分を分析するのに十分な濃度感度を得られるような範囲に生じさせるように、前記励起光の集光度が調整してあることが、より好ましい。

- 15 なお、前記励起光の光軸は、前記試料または前記混合流動体の流れ方向に対して斜め方向でもよい。

さらに、前記励起光の集光度は、前記キャピラリに前記励起光を照射する対物レンズの開口数で調節することができる。

- 20 さらに、本発明に係る分析装置の前記キャピラリは、前記試料を流す試料流路と、前記測定を行う流路とを有することに加えて、前記試料流路と前記測定を行う流路との間に、少なくとも一つの試薬混合手段を有し、

- 25 前記試薬混合手段は、前記試薬を流す少なくとも一つの試薬流路と、前記試料流路側から流れてくる流動体と前記試薬流路から流れてくる前記試薬との合流点と、この合流点より下流側に設けられ、前記試料流路側から流れてくる流動体と前記試薬流路から流れてくる前記試薬とを所

定比率で混合して所定時間反応させる混合流路と、から構成され、

前記試薬混合手段が複数の場合には、各試薬混合手段は直列関係に配設され、

- 5 さらに、前記試料流路および前記試薬流路の流量を前記混合比率に応じて調整する流量調整機構を備えた構成とすることができる。

かかる構成の場合、前記キャピラリは、前記試料と前記試薬とが連続的に流され、前記混合流路は、その直前の合流点で合流した流動体が、所定の流速下で、所定の混合および反応を終了するために必要な時間流動するのに十分な長さの流路とすることができる。

- 10 さらに、前記試料に電圧を印加する、もしくは前記試料および前記試薬に別々に電圧を印加することにより、前記試料、もしくは前記試料および前記試薬を流すことができる。

さらに、前記試料は、生物学的材料に由来する試料とすることができる。

- 15 さらに、前記チップを前記一对の平板状部材で構成した場合、その一对の平板状部材の少なくとも一方は、圧縮成形法、エンボス成形法、射出成形法、ガス存在下で樹脂のガラス転移点を下げる射出成形法、射出圧縮成形、電磁誘導による金型表面加熱射出成形法のいずれか、またはこれらの組み合わせにより成形された有機ポリマー製の平板状部材とす
20 ることができる。

この場合、前記ガス存在下で樹脂のガラス転移点を下げる射出成形法において使用されるガスは、炭酸ガスが適用できる。

- かくして、本発明に係る分析装置は、チップ内で試料や試薬の秤量を行うことなく、所定の混合、反応等を起こさせた後に、光熱変換検出装置の検出システムを用いて所定成分を光熱変換検出法で検出する。検出
25 方法として光熱変換検出法を用いることにより、微量の所定成分の高感

度検出が可能である。さらに、チップ内外を問わず秤量を行う必要がないため、操作性に優れるだけでなく装置の小型化も可能となった。

図面の簡単な説明

- 5 第1図は、本発明の光熱変換検出法に基づく分析装置の、熱レンズ検出部の模式図である。
- 第2図は、本発明の光熱変換検出装置の構成図である。
- 第3図は、一定量のサンプリングを目的とした流路パターン－1である。
- 10 第4図は、一定量のサンプリングを目的とした流路パターン－2である。
- 第5図は、本発明の、複数の流動体同士を合流させることで、希釈、混合などを行わせる流路の模式図－1である。
- 第6図は、本発明の、複数の流動体同士を合流させることで、希釈、
- 15 混合などを行わせる流路の模式図－2である。
- 第7図は、本発明の、複数の流動体同士を合流させることで、希釈、混合などを行わせる流路の模式図－3である。
- 第8図は、本発明の、複数の流動体同士を合流させることで、希釈、混合などを行わせる流路の模式図－4である。
- 20 第9図は、射出成形により成形された、表面に流動体の流れる微細な溝を有する有機ポリマー製の板状部材の溝パターンを示す図－1である。
- 第10図は、一対の有機ポリマー製の板状部材を張り合わせ、導電性インクで配線と液だめ用電極および検出装置内の電源端子接続用電極とを印刷したチップを示す図－1である。
- 25 第11図は、第10図のa－a'線での断面図である。
- 第12図は、合流点において、直角に側流が合流することで2つの試薬

類を合流させる、流路の図である。

第13図は、合流点において、鋭角的に側流が合流することで2つの試薬類を合流させる、流路の図である。

5 第14図は、2つ以上の合流点において、2つ以上の試薬類を合流させる流路の図である。

第15図は、ポリマー基材のレーザー光の吸収率および熱レンズ検出法による出力を測定した結果を示す図である。

第16図は、表面に流動体の流れる微細な溝を有する有機ポリマー製の板状部材を成形する金型装置の断面を示す図である。

10 第17図は、本発明の、表面に流動体の流れる微細な溝を有する有機ポリマー製の板状部材を成形する金型の、金型表面部に加工された溝からなる流路を、成形（転写）するための微細形状を示す平面図（a）と、その微細形状のa-a'線断面の形状を示す断面図（b）と、b-b'線断面の形状を示す断面図（c）である。

15 第18図は、射出成形により成形された、表面に流動体の流れる微細な溝を有する有機ポリマー製の板状部材の溝パターンを示す図-2である。

第19図は、一对の有機ポリマー製の板状部材を張り合わせ、導電性インクで配線と液だめ用電極および検出装置内の電源端子接続用電極とを印刷したチップを示す図-2である。

20 第20図は、第19図のc-c'線での断面図である。

第21図は、実施例において使用した熱レンズ検出装置の模式図である。

第22図は、熱レンズ検出装置のキャピラリに対するレーザー焦点位置と熱レンズ検出法による出力との関係を示す図である。

25 第23図は、射出成形により成形された、表面に流動体の流れる微細な溝を有する有機ポリマー製の板状部材の溝パターンを示す図-3である。

第24図は、一对の有機ポリマー製の板状部材を張り合わせ、導電性イ

ンクで配線と液だめ用電極および検出装置内の電源端子接続用電極とを印刷したチップを示す図－ 3 である。

第25図は、第24図の a - a ' 線での断面図である。

第26図は、実施例 3 における、コレステロールの濃度と熱レンズ検出
5 法による出力との関係を示す図である。

第27図は、実施例 4 における、コレステロールの濃度と熱レンズ検出法による出力との関係を示す図である。

発明を実施するための最良の形態

10 本発明に係る分析装置は、キャピラリを備えたチップと、検出装置と、からなる。

チップは、一对のポリマー製の平板状部材から成り、少なくとも一方の表面には流動体が流れる溝が刻まれている。これら平板状部材は、溝を内側にして張り合わせることでキャピラリを形成する。このキャピラ
15 リは、試料用および少なくとも一種類の試薬溶液用の各々の流路を有し、また、該流路が順次あるいは一度に合流する合流点を有する。さらに、このキャピラリは、前記試料と前記試薬溶液との混合、化学反応に必要な所定の長さ以上の距離の流路を合流点の下流側に有し、また該流路が測定を行う流路に連結する構造を有している。これらの試料、試薬溶
20 液は所定の流量で送液されるよう制御される必要があるので、前記分析装置はそのための仕組みを有している。すなわち、前記試料と前記試薬溶液とがキャピラリ中を所定の流速で流れるような仕組みである。

そして、検出装置は、励起光および検出光を照射する機構を備えており、光熱変換検出法（例えば、ぶんせき No.4 280-284(1997)）に基
25 づく光学的検出システムからなる。

（ポリマーチップについて）

本発明においては、平板状部材の表面に備えられた溝の断面形状は、四角形、三角形等の多角形の形状、半円形、半楕円形等、特に制限されない。また、チップが何種類かの異なった形状の溝を組み合わせる流路を表面に有していてもよい。溝の上面（開放面）の幅は、溝の下面（底）の幅と同じであるか又は広くてもよい。なお、後述の光熱変換法に基づき検出手段をより簡便に精度良く行うためには、溝断面形状が四角形であることが望ましい。

この溝は、あまり小さすぎると、微粒子により流れが乱される原因となる。また、あまり大きすぎると、多くの流路を1つの平板状部材の表面に作る際に、平板状部材の面積を大きくしなければならないだけでなく、拡散による混合を行う際の拡散距離の点で問題が発生する。そのため、溝の幅が $1 \sim 1000 \mu\text{m}$ 、深さが $0.1 \sim 1000 \mu\text{m}$ 、断面積が $1 \sim 1000000 \mu\text{m}^2$ であることが好ましい。より好ましくは、幅が $2 \sim 500 \mu\text{m}$ 、深さが $1 \sim 500 \mu\text{m}$ 、断面積が $2 \sim 250000 \mu\text{m}^2$ 、更に好ましくは、幅が $2 \sim 200 \mu\text{m}$ 、深さが $1 \sim 200 \mu\text{m}$ 、断面積が $2 \sim 40000 \mu\text{m}^2$ である。

本発明の有機ポリマー製の平板状部材は、その表面に有する溝の寸法精度は特に問わない。しかし、極微量成分の分析や定量分析等を行う上では、寸法精度は優れていることが好ましい。すなわち、溝の寸法精度は、操作の精度および個々の分析装置間の再現性を得るため、金型の凸形状（成形により転写され、平板状部材では溝が形成される）に対し、幅および深さにおいては $\pm 5\%$ 以内、断面積においては $\pm 7\%$ 以内の寸法精度（寸法転写精度）を有することが好ましい。また、高精度の定量分析を行うためには、幅および深さが $\pm 2\%$ 以内、断面積が $\pm 4\%$ 以内の寸法精度を有することが更に好ましい。

本発明のキャピラリを備えたチップは、その少なくとも一方が表面に

流動体の流れる溝を有する 2 枚の平板状部材を、超音波融着、熱融着、ホットメルト接着剤や UV 接着剤等の接着剤による接着、粘着剤による粘着、直接または薄い弾性シートを介しての圧接等の方法で、前記溝を内側にして張り合わせて作られる。いずれの場合も、張り合わせ時の気泡の混入を防ぐために、真空系中で圧着できる真空ラミネーターを用いたり、中心部から周辺部に向かって気泡を追い出しながら圧着して行く方法などを用いることが好ましい。

溝を有していない方の平板状部材（以降は、「被せ板」と記す）としては、メタクリル樹脂シート、ポリカーボネートシート、ポリスチレンシート等の樹脂製の平板状シートあるいはガラスシート（薄いガラス板）等を用いることができる。これらシートの厚みは、光の吸収度の問題等の後述のような光熱変換分析への障害がなければ、特に限定されるものではないが、0.05～数mm程度が好ましい。

また、チップは、試料または試薬などの導入のため、および、電極を付けるための開口部を、張り合わせる 2 枚の平板状部材のいずれか一方に、貫通孔として有している。貫通孔は、平板状部材の各流路の端部に作られているか、または、張り合わせるもう 1 枚の平板状部材側の前記各流路の端部と合わさる部分に作られているのが望ましい。貫通孔の大きさは、特に限定されるものではないが、開口直径は 0.1～数mm程度が好ましい。

溝を有する平板状部材に用いられるポリマー基材の材質の選択において、成形加工性は重要な要素である。成形加工性の面から良好に使用できるのは、一般の溶融加工可能な透明性熱可塑性樹脂、UV 硬化や熱硬化によって得られた透明性樹脂である。なお、表面に溝を有する平板状部材を大量に且つ安価に成形加工できる点で前者が良好である。その中でも非結晶性熱可塑性樹脂、非結晶性樹脂が主成分の熱可塑性ポリマー

アロイ、あるいは結晶化度が低い一部の結晶性熱可塑性樹脂が良好である。特に良好に使用できるのは、硬質樹脂であり、具体的には、ポリスチレン、スチレン-アクリロニトリル共重合体等のスチレン系樹脂、ポリメチルメタクリレート (PMMA)、メチルメタクリレート-スチレン共重合体等のメタクリル樹脂、ポリカーボネート (PC)、ポリスルホン、ポリエーテルスルホン、ポリエーテルイミド、ポリアリレート、ポリメチルペンテン、ポリ塩化ビニル樹脂、ポリシクロヘキサジエン、ポリエステル等である。

また、1, 3-シクロヘキサジエン系重合体も好適に用いられる。1, 3-シクロヘキサジエン系重合体は、ホモポリマーを使用することも可能であるが、共重合体を使用することもできる。この共重合体としては、1, 3-ブタジエン、イソプレン、1, 3-ペンタジエン、1, 3-ヘキサジエン等の鎖状共役ジエン系モノマー、スチレン、 α -メチルスチレン、p-メチルスチレン、1, 3-ジメチルスチレン、ビニルナフタレン、ビニルスチレン等のビニル芳香族系モノマー、メタクリル酸メチル、アクリル酸メチル、アクリロニトリル、メチルビニルケトン、 α -シアノアクリル酸メチル等の極性ビニルモノマー若しくはエチレンオキシド、プロピレンオキシド、環状ラクトン、環状ラクタム、環状シロキサン等の極性モノマー、またはエチレン、 α -オレフィン系モノマーとの共重合体が挙げられる。この場合の共重合比は、重量比で1, 3-シクロヘキサジエンモノマー/コモノマー=75/25~100/0が好ましい。光透過性の高いシクロヘキサジエン系ポリマーについては日本特許願 平成9年第277045号明細書中に、詳細に記述されている。該ポリマーは、素材として、200nm以上の波長の吸収はほとんどなく、また、非晶性のC-Hポリマーなので、短波長の光源による検出も可能である。

- これらポリマー基材を用いて成形される本発明のチップは、チップを構成する一对の平板状部材の両方が検出光を透過する素材からなり、両平板状部材の少なくとも一方が励起光を透過する素材からなっている。本発明の分析装置は、このようなチップと光熱変換検出装置とからなる
- 5 ことにより、従来の樹脂製チップを用いた分析装置では測定が困難であった紫外領域の吸収しかもたない検出対象物質も、高感度で検出することが可能であり、汎用性が高い。このことは、生体物質の中には紫外領域の吸収しかもたないもの（つまり、人間の目には無色のもの）も多いため、医療診断用の分析に用いるためには非常に重要なことである。
- 10 ここで、紫外領域の吸収しかもたない物質の分析について、若干の補足説明を加える。有機ポリマー（樹脂）は、チップ素材として、生産性、コスト、廃棄物処理等の点でガラスよりも優れている。しかしながら、有機ポリマーは一般には紫外領域で吸収がある。そのため、一般的な検出法である吸光度法で対象物質を検出しようとする、チップ素材による
- 15 吸収が大きく正しい測定値が得られない。さらに、100 μm 程度の光路長では、チップ素材が吸収しない波長を用いても微量成分の検出は困難である。蛍光で検出することも可能であるが、蛍光を発する物質に検出対象が限定され汎用性に乏しい。
- それに対し光熱変換検出法は、励起光さえ対象物質に吸収されれば、
- 20 検出光の波長は、有機ポリマーが吸収しない波長を自由に選ぶことが可能である。一对の平板状部材からなるチップにおいて、両方の平板状部材が有機ポリマーに吸収されない波長（一般には可視光）の検出光に対して『透明』であり、さらに、一对の平板状部材のどちらか一方が、対象物質の励起を起こすのに十分な励起光を透過する透過度を有していれば、汎用的な測定が可能となる。具体的な例として、溝を有する平板状
- 25 部材の厚みが1～5 mm程度であり、この平板状部材に張り合わせる平

板状部材（被せ板）が500 μ m程度以下の薄いシートであり、このシートが励起光に対して高い透過率の素材からなっている場合で説明する。この場合は、励起光を薄いシート側から当てることにより、溝を有する平板状部材が励起光に対して透過率が小さくても、検出対象物質を高感度で検出することが可能である。

本発明で使用する有機ポリマーは、光熱変換法に用いられる波長の光に対して透明性を有する樹脂であることが求められる。レーザーのパワー損失を考慮すると、光熱変換検出で使用する励起および検出のレーザーの波長で、透過率が80%以上、好ましくは90%以上のものが望ましい。励起および検出のレーザーの波長を考慮すると、一般的には、600nm～800nm、好ましくは400nm～800nmの波長範囲で、ASTM D1003で測定した光線透過率が80%以上、好ましくは90%以上のものが望ましい。

上記の光線透過率は、チップ表面での反射率および有機ポリマー基材そのものによる吸収率の総和を、100%から減じた値である。チップ表面などで散乱される光は有機ポリマーに対しては何の効果も発揮しないのに対し、有機ポリマー基材によって吸収される光は、有機ポリマーに対しても熱を発生させる効果を持つ。よって、光が有機ポリマーを通過する際に熱レンズのような効果が生じ、熱レンズ検出法による出力に対しバックグラウンドとなるため、測定の誤差となる。そのため、実際のチップ作成に先立って有機ポリマー材の評価を行ない、実際の熱レンズ検出法に影響を及ぼさない吸収率の範囲を決定する必要がある。

吸光度で検出する場合は、有機ポリマーによって10%程度吸収されたとしても、全体の光量を90%に低下させるにすぎず、検出感度にはさほど影響しない。しかしながら、光熱変換検出法の場合は、10%以下の吸収であっても、樹脂中に形成される熱レンズのため測定に大きな

影響を与える。

後述の実施例に示す測定結果を鑑み、熱レンズによる本願分析装置を、定量測定を目的とする用途に応用する場合は、励起光がチップを通過する全光路で該有機ポリマーによって吸収される割合は5%以下であることが必要であることが判明した。

しかし、測定対象物の濃度が薄く、かつキャピラリーが細い（溝が浅い）といった、測定に高感度を要求される場合には、わずかな吸収であっても、キャピラリー中の物質測定に悪影響を与えるバックグラウンドの原因となる。

10 測定対象が血液中成分等で、試薬として現状流通している試薬キットを使用した場合、1 cmのキュベットでの吸光度が0.1程度の測定はよく行われる。この測定を仮に50 μ mのキャピラリーを備えた本発明の有機ポリマー製チップを用いて行ったとすると（すなわち光路長が50 μ m）、1 cmの光路長での吸光度0.1は、50 μ mのキャピラリーに
15 対しての吸収率としては0.103%に相当する。有機ポリマー製チップによる吸収（熱レンズ形成）を、この10倍まで許容するとすると吸収率は1%、2倍までとすると吸収率は0.2%となる。

つまり、1 cmの光路長の場合の吸光度が0.1程度の測定を、本発明の分析装置で行うには、チップを形成する有機ポリマーによる光の吸収が1%以下、より好ましくは0.2%以下であることが望ましいとい
20 うことになる。

ただし、この値は、試薬キットの改良、キャピラリーの深さの違い等により変化し得る。例えば、1 cmのキュベットでの吸光度を0.5程度まで上げることは、現状の技術をもってすればさほど困難は伴わない。
25 この場合、50 μ mのキャピラリーに対する吸収率は0.342%に相当し、有機ポリマー製チップによる吸収（熱レンズ形成）を、この10倍

まで許容するとすると、吸収率はおよそ3.5%、2倍までとすると1%弱となる。

検出光についても、吸収があることにより自らの光路に変化をきたす結果を招くため、同様に、チップを通過する全光路で該有機ポリマーによって吸収される割合を数%以下にすることが望ましい。

このように、熱レンズ検出法により分析、計測を行う場合、チップを構成する基材を、適切に選択しなければならないことが判明した。励起光、検出光、いずれの場合においても、ポリマー基材の許容される吸収率は、測定する対象物の濃度または吸光度により変化する。そのため、チップを構成する基材による励起光、検出光の吸収は、熱レンズ検出法による測定に対して実質的に影響しない程度である必要がある。生化学反応系を例にとると、ポリマー基材の吸収率は数%以下であることが望ましい。

上述の基準を元に選択された有機ポリマーからなる平板状部材は、切削加工やレーザー等によるエッチング加工、型内でのモノマーおよび／またはマクロモノマーのUV硬化や熱硬化、熱可塑性樹脂の溶融加工や塑性加工等の方法により成形できる。良好に使用できる成形加工法は、表面に溝を有する平板状部材を大量に且つ安価に成形加工できることから、熱可塑性樹脂の溶融加工や塑性加工である。さらに良好に使用できるのは、金型を用いた熱可塑性樹脂の射出成形法および／または圧縮成形法、エンボス成形法である。射出圧縮成形を含む射出成形法は、量産性や経済性の優れる成形法である。圧縮成形は、量産性では射出成形には劣るが、型表面を転写性良く成形する方法である。具体的には、予め板状に成形された熱可塑性樹脂を金型内に入れ、熱プレスにより熱可塑性樹脂を溶融温度まで加熱する。そして、加圧圧縮（プレス）し型表面を転写後、加圧した状態で熱プレスを冷却し、熱可塑性樹脂を軟化温度

以下で冷却固化する方法である。特に、樹脂の金型キャビティへの充填
工程中に、金型に接する樹脂表面の固化温度を低下させつつ射出成形す
る射出成形法（日本国特許公開公報 平成10年第128783号、日
本国特許出願 平成10年第50719号明細書）は、生産性良く成形
5 精度の高い微細な溝を有する有機ポリマー製の平板状部材を作ることが
できるため、特に好ましい成形方法と言える。この射出成形方法の具体
例としては、キャビティ内に炭酸ガスを満たしておき射出成形する方
法が上げられる。この場合の炭酸ガスの圧力は、10 MPa 以下が好ま
しく、更にはガス溜まりの防止と樹脂表面の固化温度を低下させる効果
10 との兼ね合いから0.3～2 MPa が好ましい。

また、成形直前に高周波誘導加熱で金型表面を加熱して成形する射出
成形方法（日本国特許公告公報 昭和62年第58287号、米国特許
第4439492号等に記載）や、成形直前に輻射加熱で金型表面を加
熱して成形する射出成形方法（成形加工シンポジウム'95, 241<1
15 995>、成形加工'96, 69<1996>、合成樹脂, 42巻（1
）, 48<1992>等に記載）などのような、金型表面を加熱して成
形する射出成形方法も、本発明の有機ポリマー製の平板状部材の製造に
好ましい成形方法である。つまり、前記成形方法は、金型温度を低く設
定し、高周波誘導加熱やハロゲンランプ等の熱源により、成形直前に金
20 型表面だけを選択的に加熱して、型表面転写性と成形サイクルとの両立
をはかれる成形方法であるからである。

本発明の有機ポリマー製の平板状部材を、日本国特許公開公報 平成
6年第283830号の回路基板を製造する方法に基づいて製造するこ
とも可能である。この方法によれば、飛来する粒子の方向が厚いレジス
トにより垂直方向にそろうため、通常の薄いレジストに比べてシャープ
25 な加工が可能で、高アスペクト比の溝を作ることができる。また、樹脂

基板上に感光性レジストを塗布し溝以外の部分を露光した後、未硬化部分を除去して、溝の形状のレジストパターンを基板上に形成する手法も可能である。

- 金型は、鉄または鉄を主成分とする鋼材、アルミニウム、またはアルミニウムを主成分とする合金、亜鉛合金、ベリリウム-銅合金、ニッケル等からなる、一般に合成樹脂の成形に使用されている金属金型が良好に使用できる。

- 金型作製方法の1つの例を挙げる。まず、金属、プラスチック、シリコンまたはガラス等の材料から、切削加工やエッチング加工、または紫外線硬化樹脂のフォトリソグラフィ加工等の方法により、目的とする微細な溝を有する有機ポリマー製の平板状部材の表面形状を有する母型を1つ作成する。そして、この母型からニッケル等の電気化学的鑄造法により金型が作製される。

- また、前述の日本国特許公開公報 平成6年第283830号のレジストパターンを形成する方法を用いて金型を作ることにも可能である。金属基板にレジストパターンを形成した後、レジストの無い部分を金属メッキで埋める。そして、レジストを除去して、基板表面に微細なパターンを施した金属板を形成する。この金属板を金型にして、樹脂の加工を行うことが可能である。

- また、本発明の有機ポリマー製の平板状部材で構成されるチップは、キャピラリ内面を、ポリエチレングリコールのグラフト重合などにより蛋白吸着防止処理をしてもよい。また、後述する電気浸透流を送液手段として使う場合は、安定した電気浸透流を発生させるため、水酸化ナトリウム溶液などでキャピラリの表面を処理しても良い。特に、PMMAを有機ポリマーとして用いる場合は、水酸化ナトリウム処理を行うと、表面のエステルが加水分解されカルボン酸が露出するため、電気浸透流

が大きくかつ安定するので好ましい。

また、送液方法として後述する電気浸透流 (EOF) を用いた場合、チップは、金属針、金属板、金属箔などからなる金属製電極、導電化処理された無機または有機ポリマー製電極或いは導電性インクで印刷された電極を、チップの表面に有していてもよい。この場合は、キャピラリおよびキャピラリの端または途中に設けられた液溜（試薬、試料、緩衝液、廃液などを入れる）に接する電極、検出装置と連結できる電極、およびそれら電極間のリード線も、チップ内に装備することが好ましい。

金属針を挿入する場合は、径0.1 ~ 2.5 mmφで、平板状部材の溝の近傍まで達する長さの白金、銅、真鍮、アルミ、鉄などからなる釘、針、ハトメ状のもの等を、貫通孔内に固定することが好ましい。

導電性インクによる印刷の場合は、金、銀、銅、ニッケル、カーボンブラック、グラファイト等の微粒子を含有したインクを用いて、例えばスクリーン印刷で電極を形成することができる。スクリーン印刷で貫通孔の内壁を印刷するには、最近の多層化プリント基板の各層の導通のために行われるスクリーン印刷機による、導電性インクのスルーホール印刷技術を応用することができる。スルーホール印刷は、印刷する試料を試料台の上に、試料の貫通孔と試料台の吸引孔との位置を合わせて設置し、試料に印刷しながらまたは印刷した後、貫通孔周辺に溜まったインクを吸引して、貫通孔の内壁をつたわらせて印刷するものである。

真空蒸着やスパッタ製膜では、貫通孔の内壁全面または一部のいずれの場合も、深さは平板状部材の溝の近くまで達するように、金や白金を印刷あるいは蒸着する。この際、貫通孔をテーパ状にしておけば平板状部材を傾けることなく貫通孔の内壁に電極を形成することができる。

また上記電極以外に、チップを装着する検出装置内の電源端子と連結するための電極、およびそれらの電極間のリード線も、導電性インク、

真空蒸着、スパッタ製膜で形成できる。また、銅板等の薄板を張り付けておいて、エッチングで配線パターンを形成したり、パターン形成した銅箔等を板上に転写あるいは張り付けしても形成できる。

5 また、溝を有する平板状部材やそれに張り合わせる平板状部材（被せ板）以外の第3の平板状部材や成形品に、上記と同じ様な方法で電極および／または配線を形成し、この第3の平板状部材や成形品を張り合わせることによって、電極および／または配線を装備している装置とすることもできる。

10 いずれの場合でも、高電圧を印加した際の発熱が、電気泳動に影響を及ぼさない程度に抑えられるよう、材質と大きさを選ぶことが必要である。

（流動体について）

15 本発明が分析の対象としている流動体は、主として液体と気体であり、その中でも特に水溶液である。有機溶媒やガス状の物質も扱えるが、いずれもチップの素材、接着剤などに腐食性、溶解性、樹脂の白化性などを持たないことが必要である。電氣的な送液の場合は、特に水溶液が好ましい対象である。

（熱レンズについて）

20 本発明に係る分析装置のチップにおいては、試料は、電気浸透流、電気泳動または他の適当な手段により、精度良く流量を制御される。そして、必要に応じて希釈や他の試薬との反応を行った後、その流路の下流において、以下に述べる方法で対象物質が検出される。

25 第1図に、光熱変換現象に基づき形成される熱レンズを用いた検出法の原理を示す。レンズにより集光されたレーザー光（励起光）を試料に照射すると、光励起によって試料に含まれる測定対象物から熱が発生（光熱変換効果）し、その熱によりレーザーの焦点付近の屈折率が低下す

る。そして、熱拡散などの効果により屈折率の空間分布ができる。この領域を通過する光は屈折率の分布により直進せず、光学的にレンズが生じたのと同じ効果を生じさせる。このような仮想的なレンズの効果を熱レンズ効果と呼ぶ。例えば、水のように屈折率の温度係数が常温付近で負の物質の場合は、凹レンズが生じたのと同じ効果を示す。レンズ効果の強さ（レンズの度）は発生する熱量に比例、すなわち励起した分子の数に比例する。そこで、別に検出のためのレーザー光（検出光）を入射すると、レンズ効果により、検出レーザー光は本来の光路より広がったり狭まったりする。この検出レーザー光の変化の大きさから、発熱量、すなわち測定対象物の吸光量を測定でき、測定対象物の定量化が可能となる。原理的に熱レンズは、励起レーザー光の焦点付近に形成されるため長い光路長を必要とせず、微小領域内の試料の検出に適する。

この熱レンズ検出装置を本装置に備えることにより、従来技術では、チップ面の上下幅程度（角度は必ずしもチップ面に垂直である必要はない）、すなわち溝の深さ程度（ $1 \sim 1000 \mu\text{m}$ 程度）の短い光路長のため計測が困難であった被検出物の濃度などの測定が可能となった。

先述したように、有機ポリマー製の平板状部材の溝は、幅、深さが $1 \sim 1000 \mu\text{m}$ 程度なので、板面の上下（角度は必ずしもチップ面に垂直である必要はない）方向、つまり、流動体の流れと垂直または斜め方向の光路長は、溝の深さ程度までしか取れない。しかし、熱レンズ検出法を用いれば、この程度の光路長でも十分高感度で対象物質を検出することが可能である。したがって、光熱変換検出法は光路長を長く取るための複雑な流路構造をとる必要がないので、チップが低コストである。また、半導体レーザーとフォトダイオードとの組み合わせなど、小型かつ安価で簡単な光学系の検出装置で検出が可能である。ただし、検出に用いられるチップの材質については、励起光に対する吸収率が小さくなければ

ならない制限がある。さもないと、第1図に示すように本来の濃度検出のための熱レンズの他に、熱レンズ相当の領域ができて、それにより誤差が発生する。

- 光熱変換検出法を用いた検出装置としては、検出対象物質が吸収する波長を有し、熱レンズを形成させるのに十分な出力を備えた励起光源が必要である。励起光としては、キセノンランプなどから必要とする波長の光をプリズムを用いて取り出したものでもよいし、検出対象物質を励起することが可能な波長を有するレーザーでもよい。レーザーとしては、He-Ne レーザー、Arレーザー、炭酸ガスレーザー、YAGレーザーなども用いられるが、半導体レーザーを用いると検出装置が小さくなり、POC分析等や環境計測などの用途に適する。検出光の光源は、励起光よりも出力は小さくてもよく、また、波長は励起光と同じでも違っててもよい。励起光、検出光ともにキャピラリ流路中、もしくはキャピラリ近傍に焦点を結ぶのが好ましく、その場合は集光レンズが必要である。
- 励起光はチョッパー等で0.1～10m秒程度のパルス光にされている。そして、フォトダイオード、CCDカメラ、光電子倍增管などで捉えられた検出光は、前記チョッパーと同調するロックインアンプなどで信号処理されることで、熱レンズにより引き起こされるその変化分のみが取り出される。なお、検出光の検出には、フォトダイオードの使用が検出装置の小型化の点では適している。

- ロックインアンプは、単機能の半導体素子などで簡略化が可能である。また、励起光のパルス化は、半導体レーザーを電氣的に変調させても良い。また、検出光の検出の際、一般にはロックインアンプを用いるが、日本国特許公開公報 平成9年第229883号に開示される暗視野型光熱変換分光分析装置の方法を用いて、遮蔽板で励起光および検出光の光軸付近の光束を遮蔽し、熱レンズによって発散された検出光のみを検

出す手法をとってもよい。あるいは、励起光のパルスに合わせて機能を絞ったLSIなどに置き換えても良い。

また、本発明では、極微小空間に存在する分子数を数えるといった絶対感度は必要ではなく、キャピラリ中に存在する物質の濃度が高感度で
5 測定できればよい。すなわち、濃度感度が高いことが必要である。つまり、熱レンズは、できる限りキャピラリの所定断面全体に広げるほうが、その中に存在する測定対象物質の分子数が多くなり、熱レンズ効果が大きくなる。

なお、所定断面とは、キャピラリ内の流動体の流れ方向と励起光の光
10 軸とを含む平面に対して垂直な平面のうち、前記光軸を含む平面による断面である。なお、この光軸はキャピラリ内の流動体の流れ方向に対して垂直であることが望ましいが、斜めでもよい。

しかし、励起光を広げすぎると単位体積当たりの光量が減り、熱拡散などの影響により熱レンズ効果は低下するので、励起光の広さには最適
15 値がある。本実施例1の場合には、キャピラリの深さ $50\mu\text{m}$ に対し、 $\text{NA}=0.4$ の対物レンズを用い、キャピラリの深さ方向の中心位置での励起光のビーム径（最大光量に対し 13.5% ）が $38\mu\text{m}$ となっており、この時に熱レンズ検出法による出力の最大値が得られた。熱レンズが大きくなると、有機ポリマー製のチップ内にも熱レンズが形成され
20 るので、前述したように、バックグラウンドの原因となって、測定感度を低下させることは明らかである。

このように熱レンズは、前記所定断面のうち、測定する所定成分の濃度感度を、前記所定成分を分析するのに十分な感度とするような範囲に形成させることが必要である。そのためには、適切な集光度を持ち、かつ適切な位置で焦点を結ぶように励起光の調整を行う必要がある。
25

この熱レンズの大きさ（温度変化の発生する範囲）の調節法は種々有

るが、キャピラリに励起光を照射する対物レンズの開口数を調節しても行うことができる。通常の熱レンズ、例えば、日本分析化学会第44年会(1995)要旨集IC05に記載されている顕微熱レンズシステムを、そのまま本発明に係るチップに用いたところ、対象物質の検出感度は必ずしも高いとは言えなかった。熱レンズの検出部のキャピラリのサイズとしては、幅、深さとも20 μ m程度以上が好ましい。一方、先述の顕微熱レンズでは、倍率70倍で励起光のビーム径は約4 μ mとなり、さらに絶対感度を上げるために、顕微鏡の倍率を上げ、ビーム径をサブミクロンのオーダーまで絞ることが記載されている。本発明者らが、
5 検出部のキャピラリが深さ約50 μ m、幅が約50 μ mであるチップを用いて、ビーム径4 μ m程度の励起光で熱レンズ検出法による出力を測定したところ、検出感度は低かった。

そこで、集光レンズの開口数を種々検討した実験の結果、開口数を0.1程度に落として、ビーム径を50 μ m程度に広げた例では、検出感度の改善が見られた。これは、従来の熱レンズ検出法は、微小空間の物質の分子数を最低いくつから検出できるかという絶対感度を高めるため、励起光を光学的集光レンズなどで強く絞って試料溶液に集光し、形成される熱レンズの厚みを小さくしているので、試料溶液一定体積当たりの物質量の定量という濃度感度が低いためであると考えられる。

20 一方、医療診断や環境分析等では絶対感度ではなく、濃度感度が高いことが重要である。したがって、従来の熱レンズ検出法とは異なり、励起光の集光度を下げて、安定した電気浸透流を得る流路断面積程度に熱レンズを広げることにより、濃度感度を上げ、安定した電気浸透流が可能な小断面積のキャピラリで、高感度で物質を検出できる。

25 実際に熱レンズ検出法を用いて、本願発明のようなチップに形成されたキャピラリ内の物質を分析する手順について、以下に記載する。

第2図に示された顕微鏡を含む各光学部品を、安定した実験台の上に設置する。実験台は防振効果を持つものが望ましい。また、レーザー光を集光するための顕微鏡は、外部より直接レーザー光を導入できる導入口を備えている。なお、励起光の光路上に設置されたチョッパーの周波数は116 Hzに調整をした。この値は、電源などのノイズ源からのノイズを拾わないよう心掛ければ、変更は可能である。

まず、励起光、検出光、それぞれの光路途中に設置されたビームエキスパンダーの光軸を調整する。特に、検出光に対しては、ビームのコリメート度を変化させても光軸がずれないように厳密な調整を行う。今回、ビームエキスパンダーの拡大率は10倍とした。次にこれら2つのレーザー光を、ダイクロイックミラーを用いて同軸にする。ダイクロイックミラーは励起光に対して90%以上の透過率を有しており、一方、検出光に対しては80%以上の反射率を有している。この特性により、励起光、検出光ともに光量損失を押さえつつ、同軸にすることができた。同軸にした後、検出光のビームエキスパンダーのコリメート度を変化させ、顕微鏡下での目視により、励起光との同軸性が落ちないレベルに励起光と検出光との同軸性を高める。

測定に使用するチップを顕微鏡下に設置し、チップ内に形成されたキャピラリーに測定試料を導入する。その後、励起光の焦点がキャピラリーの深さ方向の中心に来るように、高さの調整を行う。対物レンズはキャピラリーの深さ(幅)が $50\mu\text{m} \sim 100\mu\text{m}$ ならば、 $\text{NA}=0.2 \sim 0.8$ の範囲で調整をすればよく、0.2、0.4、0.6の3点について感度の検討を行った。高さの調整は顕微鏡下でチップを上下に微動させ、大気/基板界面もしくは基板/キャピラリー界面での反射を見ながら高さの調節を行う。この場合、目視なので励起光の焦点深度程度の誤差を含み、開口数が0.4の対物レンズを用いた場合には $2\mu\text{m}$ 程度となるが、この程度であれば問

題はない。最初に、開口数0.2 の対物レンズを用いて、上記の様に試料を導入したチップの高さ調節を行う。そのとき、励起光および検出光の焦点位置の差をほぼキャピラリの深さと同じにし、かつ検出光の焦点位置を励起光の焦点位置よりも対物レンズ側となるようにビームエクspanderを調整する。今回の場合 $50\mu\text{m}$ 程度である。ビームエクspanderを検出光が収束するように調整していけば、検出光の焦点位置は励起光よりも対物レンズ側となる。以上の状態でロックインアンプの出力、すなわち熱レンズ検出法による出力を確認する。このとき、ロックインアンプの時定数は1秒とした。この状態で、十分に有意な値が出ることを確認すると共に、励起光の迷光が光検出器に入っていないことを確認するため、励起光のみが入射した状態で、先述の熱レンズ検出法による出力が十分に小さくなることを確認する。次に、検出光のビームエクspander収束角を調整し、熱レンズ検出法による出力を見ながら、信号が最大になる位置に調整する。以上の操作を開口数が0.2、0.4、0.6の3種類について行い、最適な感度が得られる開口数を選択する。 $50\mu\text{m}$ の深さのキャピラリを例にとると、開口数0.4の対物レンズを用いた場合に、熱レンズ検出法を用いて最も高い濃度感度が得られた。

なお、熱レンズ検出法で検出できる対象物は、励起光を吸収するものであれば何でも良いが、試料中の他の物質、特に励起光を吸収するものや、検出光を吸収または検出光の波長に対して蛍光などを持つ物質とは、光熱変換が行われる前に分離しておくことが必要である。励起光を吸収する度合いは、モル吸光係数が $1,000$ から $100,000$ 程度あることが感度の点で望ましい。

励起光を吸収しない、あるいは、わずかしき吸収しない検出対象物質は、検出対象物質を基質とする酵素を用いた反応を組み合わせ、励起光を吸収する物質（可視光の場合は色素）に変換して測定する。あるい

は、検出物質対象に対する抗体を用いて、励起光を吸収する物質でその抗体または2次抗体を標識して、直接若しくは酵素反応の結果生じる励起光を吸収する物質を測定する。

例えば、検出対象物質として生物学的材料を検出する場合、検出対象物質を基質とする酵素を用いた反応を組み合わせ、最終的に以下の物質に変換することなども可能である(Aoyama, N. 臨床検査, 41:1014(1997))。すなわち、N-エチル-N-(3-メチルフェニル)-N'-アセチルエチレンジアミン(EMAE)、N-エチル-N-(3-メチルフェニル)-N'-スクシニルエチレンジアミン(EMSE)、N-エチル-N-(3-スルホプロピル)-3, 5-ジメトキシアニリン(DAPS)、N-(3-スルホプロピル)-3, 5-ジメトキシアニリン(HDAPS)、N-エチル-N-(2-ヒドロキシ-3-スルホプロピル)-3, 5-ジメトキシアニリン(DAOS)、N-(2-ヒドロキシ-3-スルホプロピル)-3, 5-ジメトキシアニリン(HDAOS)、N-(2-ヒドロキシ-3-スルホプロピル)-3, 5-ジメトキシアニリン(HSDA)、N-エチル-N-(2-ヒドロキシ-3-スルホプロピル)-3-メチルアニリン(TOPS)、N-エチル-N-(2-ヒドロキシ-3-スルホプロピル)-3-メチルアニリン(TOOS)、N-エチル-N-(2-ヒドロキシ-3-スルホプロピル)-3, 5-ジメチルアニリン(MAPS)、N-エチル-N-(2-ヒドロキシ-3-スルホプロピル)-3, 5-ジメチルアニリン(MAOS)、N,N-ビス(4-スルホブチル)-3, 5-ジメチルアニリン(MADB)、N,N-ビス(4-スルホブチル)-3, 5-ジメトキシアニリン(DADB)等と4-アミノアンチピリンの縮合体である励起光を吸収する物質、若しくはビス{4-[N-3'-スルホ-n-プロピル]-N-n-エチル}アミノ-2, 6-ジメチルフェニル}メタン(Bis-MAPS-C2)、ビス{4-[N-3'-スルホ-n-プロピル]-N-n-プロピル}アミノ-2, 6-ジメチルフェニル}メタン(Bis-MAPS-C3)、ビス{4-[N-3'-スルホ-n-プロピル]-N-n-ブチル}アミノ-2, 6-

ジメチルフェニル}メタン(Bis-MAPS-C 4)等の励起光を吸収する物質への変換である。

これら反応をチップ内で行う際に、試薬溶液はチップの外から、チューブや針を用いて供給してもよい。あるいは、チップ内にビニル袋(材質はポリエチレン、ポリプロピレン、ポリエステル、ナイロン、塩化ビニルなどで、試薬と相互作用しないものならよい)等の小さい容器に封入した試薬溶液をセットしておき、チップ内の針をビニル袋に外から押しつけるなどして該袋を破って、チップ内の試薬溜に試薬溶液を移液してもよい。さらには、試薬を乾燥固体としてチップ内に封入しておき、チップ内もしくは外の水、または緩衝液溜からの水もしくは緩衝液を、試薬固体封入場所に所定容積導入して、所定の濃度の試薬とする方法などがある。

また、試料はそのままチップに入れてもよい。また、河川の汚濁分析や尿分析などでは、前処理として分子量で分画可能な膜フィルターなどを用いて濃縮してもよい。また、チップにフィルターを設け、試料中のゴミや、血球などを除去してからキャピラリに導いてもよい。

(流量比について)

本発明のチップのキャピラリには、一定量のサンプリングを主な目的とした流路部分、試薬や試料の混合を主な目的とした流路部分、試薬や試料の移送を主な目的とした流路部分など、部分毎に異なった操作を主な目的とした流路部分を作ることができる。電気浸透流を送液手段として用いる場合には、上記のほかに電気泳動分離を主な目的とした流路部分を作ることにもできる。ポンプ送液や電気浸透流などいずれの送液手段で送液する場合にも、当然1つの流路部分が複数の目的を兼ね備えていてもよい。また、本発明のチップは、流路が、1つの操作を主な目的と

した流路部分のみからなっているとしてもよいが、複数の各々異なった操作を主な目的とした流路部分を組み合わせてなっているとしてもよい。このことにより、単なる定性分析ではなく、定量分析や反応などを伴うような高度な分析が可能な装置とすることができる。

- 5 一定量のサンプリング（分取）を主な目的とした流路部分の形状は、2本の流路が十字にクロスしている第3図に示すような形状、または1本の流路に対し2本の流路が各々T字に合流する第4図に示すような形状であり、好ましくは第4図の形状である。一定量のサンプリングは、
10 第3図の形状の流路では、試料をまずAよりBに向かって流した後にBへの流れを止め、次に試料をAよりDに向かって一定時間流した後にAからの流れを止め、更にCからDに向かって流動体を流すことにより行われる。この場合には、キャピラリの断面積と流速と時間とにより一定量のサンプリングが行われる。

- また、第4図の形状の流路では、試料をまずAよりBに向かって流し
15 た後に流れを止め、次にCからDに向かって流動体を流すことにより行われる。この場合には、キャピラリの断面積およびT字状の流路の合流点EとT字状の流路の合流点Fとの間の長さによって、一定量のサンプリングが行われる。この形状では、キャピラリが寸法精度良く作られていれば、流動体の流速や流した時間に関係することなく、キャピラリの断
20 面積および合流点Eと合流点Fとの間の長さによってのみサンプリングの量が決定する。また、キャピラリの断面積および合流点Eと合流点Fとの間の長さを変えることより、任意にサンプリングの量を設定できるので、より好ましいサンプリング（分取）方法といえる。

- 試料や試薬の混合や希釈を主な目的とした流路部分の形状は、サン
25 プリング（分取）と組み合わせて行う場合には、流路途中に幅が広い形状および／または深さの深い形状（この部分は、mmオーダーからcmオ

一ダのサイズとすることが好ましいこともある)などがあげられる。
なお、一旦、送液を止め拡散により流動体を均一化したり、機械的攪拌により流動体を均一化する等の均一化工程を取ることが好ましい。特に、機械的に攪拌できる構造(攪拌バーを入れておき、磁力により攪拌する
5 など)は、均一化に時間を必要とせず好ましい。

また、流路構造によっては、試料や試薬の混合や希釈を主な目的とした流路の形状として、1本の流路に他の流路を合流させた形状や、1本の流路に複数本の流路を一カ所で合流させた形状などを挙げることができる。1本の流路に他の流路または複数の流路を合流させ一本の流路と
10 することにより、流路形状のみで、混合操作や希釈操作を行うことができる。また、この時、各々の流量を変えることにより、異なった比率での混合や希釈も可能である。ポンプでの送液の場合には、合流する各流路の流量を機械的に変えることができる。また、電気浸透流での送液の場合には、合流する各流路の断面サイズや長さを変えたり、各流路への
15 電圧のかけ方を変えたり、各流路内表面の荷電状態を表面処理等により変えることにより、合流する各流路の流量を変えることができる。また、ポンプを外部に持つ場合には、シリンジポンプで空気圧を発生させ、その圧により流動体を押し出す形式のもの、吸引する形式のものなど、ポンプの種類は問わない。この場合には、合流部分に邪魔板構造を設け
20 たり、合流部の後に拡散により液を均一化する流路を設けることが望ましい。流動体を均一化する流路部分の形状としては、直線状の形状、蛇行状や渦巻き状に曲げられた形状などの形状が挙げられる。加えて、混合した流動体が所定の反応を行うのに必要かつ十分な時間を確保する必要があるが、混合後得られる所定の流速に応じて、合流点から次の合流
25 点もしくは検出部に至るまでの流路の距離を所要の距離とすることで、別途反応時間を計測する手段を用いることなく必要な反応を行った。

流動体の移動手段としては、ポンプなどの機械的手段、または電気浸透流などの電気的手段を用いることが可能である。

- 5 キャピラリ内の流動体の移動を、チップ外の駆動装置で稼働する送液ポンプまたは吸引ポンプで行う場合は（チップ内のポンプをチップ外の駆動装置で稼働させる事も含む）、流量をポンプの吐出量または吸引量で制御するか、または流量調節バルブを用いるなどの機械的手段によって制御することが可能である。

さらに、上記とは逆に、1本の流路が多数本に別れる流路（流路を分岐）とすることにより、分流を行うことも可能である。

- 10 電気浸透流を送液手段として用いる場合の電気泳動分離を主な目的とした流路部分の形状としては、直線状の形状、蛇行状や渦巻き状に曲げられた形状などがあげられる。蛇行状や渦巻き状に曲げられた形状は、分離のための流路の長さをチップ長辺の長さより長くできるため、直線状の形状より分離性能を上げることができる。

- 15 本発明の分析装置は、流路パターン（構成）を変えることにより、多くの分析目的で 사용할 ことができる。例えば、混合や分離を主な目的とした流路を中心に構成して定性分析用としたり、定量サンプリングを主な目的とした流路と分離を主な目的とした流路とを組み合わせた構成としたり、定量混合を主な目的とした流路を中心に構成して分離を伴う
- 20 定量分析用や反応を伴う定量分析用としたり、定量サンプリングを主な目的とした流路と混合を主な目的とした流路と分離を主な目的とした流路とを組み合わせた構成として反応を伴う定量分離分析用としたり、定量サンプリングを主な目的とした流路と混合を主な目的とした流路とを主に組み合わせた構成として分離をあまり伴わない分析用としたりする
- 25 ことが可能である。

本発明に係る分析装置のチップにおいては、試料は、電気浸透流、電

気泳動または他の適当な手段により制御されて、希釈や他の試薬との反応が行なわれる。また、これらの流動体の合流などの操作は、通常タイミングも精度良く制御しなければならない。これらの操作を精度良く、簡便に、かつ外部タイマーなど余分な装置を用いることなく行うことを、

5 それぞれの流動体を所定の流量比率で混合、反応させることと、所定の流速で流れる合流後の流動体に、混合、反応に必要な時間流動するのに必要かつ十分な長さのキャピラリを与えることとで実現できることを発見した。その詳細を以下に述べる。なお、本発明で言う流量とは、キャピラリ中を一定時間内に移動する流動体の体積を意味する。

- 10 図を用いて、より詳細に混合、反応に関わる部分の本技術を述べる。以下の説明では、簡略化のため全てのキャピラリは同じ深さを持つと仮定するが、実際に実施する場合は深さが違っていても構わない。同様に簡略化のため、合流前の流動体の流速、すなわち単位時間当たりの移動距離は、全ての流動体について v であると仮定する。これも同様に実際の
- 15 の実施場面では各流動体で違っていても構わない。以下の説明では、合流前の各流動体は速度 v で連続的に移動を続け、停止することはないとする。

- 第5図は流動体1と流動体2とを合流点1において合流させ、所定の時間かけて混合、反応を行った後、流動体3を流動体1と流動体2との
- 20 混合物に合流させる流路を示したものである。第5図では、合流点1に達するまでの流動体1、流動体2の流れる流路の幅 W は a であり、合流した後の合流点1から合流点2までの間の流路の幅 W も a である。この条件下では、流動体1と流動体2との混合物の合流点1から合流点2の間での流速は $2v$ であることが自明である。また、流動体1と流動体2
- 25 との混合比は $1:1$ であることも自明である。合流点1から合流点2までの流路の距離を k とすると、合流点1から合流点2に合流した流動体

が移動するのに掛かる時間 t は $k / (2v)$ となる。 k 、 v の値はそれぞれキャピラリのレイアウト、液送り手段の調整などにより独立に調整可能であるので、混合、反応に必要なかつ十分な時間になるように k および v を調整することで、外部のタイマーなどに頼ることなく、次工程で
5 ある流動体 3 との合流までの時間を精度良く合わせることができる。なお、最終的に混合される流動体の数が 3 以上の場合は、同一箇所において 3 つ以上の流動体を同時に合流させても構わない。これは以降の説明においても同じである。

第 6 図は別の例で、本図の場合、流動体 1 と流動体 2 とが流れる流路
10 の幅 W は第 5 図と同様 a であるが、合流点 1 で合流した後の流路の幅 W が $2a$ となっている。この条件下では、流動体 1 と流動体 2 との混合物の合流点 1 から合流点 2 の間での流速は v に保たれたままであることは自明である。この場合、もし、流動体 1 と流動体 2 との混合、反応に必要な時間が、第 5 図で説明したものと同じであるなら、それを実現する
15 ためには、第 6 図の様に合流点 1 から合流点 2 までの流路の距離を $k / 2$ とするか、この距離を k に保ったまま、第 5 図での流速 v と第 6 図での流速 v との比を $2 : 1$ にすれば良い。このいずれを採用するか、もしくは v と k の値を他の適当な組み合わせにするかは、チップのサイズ、液送り手段による制限がある場合があるが、基本的には自由である。さ
20 らに言えば、合流点 1 から合流点 2 の間の流路の幅 W を $2a$ 以外にすれば、さらに選択肢を広げることが可能である。なお、この場合も流動体 1 と流動体 2 との混合比は $1 : 1$ である。

第 7 図はさらに別の例で、本図の場合、流動体 1 と流動体 2 とが流れる流路の幅 W は第 5 図、第 6 図と違いそれぞれ a 、 b であり、合流点 1
25 で合流した後の流路の幅 W は $a + b$ となっている。この条件下でも、流動体 1 と流動体 2 との混合物の合流点 1 から合流点 2 の間での流速は、

vに保たれたままであることは自明である。この場合、もし、流動体1と流動体2との混合、反応に必要な時間が、第5図、第6図で説明したものと同じであるなら、それを実現するためには、合流点1から合流点2までの流路の距離を第6図において説明したと同様に $k/2$ とするか、
5 第5図での流速vに対する第7図での流速vの比を2:1にすれば良い。このいずれを採用するか、もしくはvとkの値を他の適当な組み合わせにするかは、チップのサイズや液送り手段による制限がある場合があるが、基本的には自由である。さらに言えば、合流点1から合流点2の間の流路の幅Wを $a+b$ 以外にすれば、さらに選択肢を広げることが可能
10 であることは、第6図で説明したのと同じである。この様にすることで、流動体1と流動体2とを $a:b$ の混合比で混合し、必要な反応を実行させることが、複雑な機構を用いることなく可能となる。

第8図は第5図～第7図をさらに拡張した例である。流動体1～4が流れる流路の幅Wはそれぞれa, b, c, dで、それぞれ図のように合
15 流点1～3で合流しており、合流点間の距離はそれぞれ、 $k/2$ 、jである。また、合流点間での流路の幅は、合流点1～合流点2で $a+b$ 、合流点2～合流点3で $a+b+c$ となっている。もちろん、これらの値は混合に必要な拡散距離、実際のチップの大きさなどに制限があるため、流路幅と流路長さとのトレードオフになり、実際の設計に際しては変
20 更可能である。図に沿って説明を行うと、合流後の流速は第5図～第7図で説明したのと同じくvとなり、流動体1と流動体2とが合流して、次に流動体3が合流するまでの時間は $k/(2v)$ であり、流動体1と流動体2との混合物に対し流動体3が合流した後、流動体4がさらに合流するまでの時間は j/v となる。 $k/(2v)$ の値と j/v の値とは
25 、混合に必要な距離、反応に必要な時間によって決まり、同じ値のこともあるが、必ずしも同じ値である必要もない。この様にすることで、流

動体 1 ～ 4 を混合比 $a : b : c : d$ で、かつ、所定の時間間隔で順次混合していくことが可能となる。以下合流する流動体の数を増やしても、同様の考え方により、所定の混合比で、所定の時間間隔で、かつ連続的に、必要な流動体を順次混合し続けることが可能である。

- 5 上記説明をチップ上で実現するための実施形態について、第 9 図～第 11 図を用いてさらに詳細に説明する。

以下の説明では、送液手段として電気浸透流を用いている。

- この実施形態のキャピラリは、一对の平板状部材を張り合わせて形成され、設定された流路に応じた平面形状の溝を板面に有する溝付き板 3 1 と、その溝面側に張り合わせる平板状の被せ板 3 2 とで構成される。
- 10 以下の説明では、この溝付き板 3 1 と被せ板 3 2 とが張り合わされたものをチップと称する。第 9 図は、この溝付き板 3 1 の溝面側を示す平面図であり、第 10 図はこの溝付き板 3 1 の溝面側とは反対側の面を示す平面図であり、第 11 図はチップの部分断面図であって、第 10 図の a - a' 線断面に相当する。
- 15

- 溝付き板 3 1 の流路をなす溝の、液の導入や廃液等の液溜めの部分となる各位置には、板面を貫通する円形の貫通孔 19 ～ 22 が設けてある。これらの貫通孔のうち液導入側の貫通孔 19 ～ 21 は試料、試薬等の液溜めとして使用され、貫通孔 22 は緩衝液の液溜めおよび廃液の液溜めとして使用される。この溝付き板 3 1 は、設定された流路に応じた平面形状の溝に対応する凹凸をキャビティ面に設けた金型を用いて、PMA 等の射出成形により容易に形成することができる。
- 20

- 第 9 図に示すように、このキャピラリは、試料導入用液溜め 19 に接続された試料流路 23 と、第 1 試薬導入用液溜め 20 に接続された第 1 試薬流路 24 と、第 2 試薬導入用液溜め 21 に接続された第 2 試薬流路 26 と、試料と第 1 試薬との反応時間に応じた長さで設けた第 1 混合流
- 25

路 2 5 と、試料と第 2 試薬との反応時間に応じた長さで設けた第 2 混合流路 2 7 とを有し、第 2 混合流路 2 7 の緩衝液および廃液用液溜め 2 2 側の端部を検出装置による検出部 2 9 としている。

5 ここで、試料流路 2 3 と第 1 混合流路 2 5 と第 2 混合流路 2 7（検出部 2 9 を含む）とは連続する直線状に形成され、この直線状の連続流路の上流側の所定位置に第 1 試薬流路 2 4 の合流点 5 を設定し、この合流点 5 との距離が試料と第 1 試薬との反応時間に応じた長さとなる。なおかつ、第 2 混合流路 2 7 の検出部 2 9 より上流側までの長さが試料と第 2 試薬との反応時間に応じた長さとなるように、第 2 試薬流路 2 6 の合流点 6 を設定してある。また、第 1 試薬流路 2 4 および第 2 試薬流路 2 6 は、直線状の連続流路に対して鋭角に合流している。

10 なお、第 1 試薬流路 2 4 と合流点 5 と第 1 混合流路 2 5 とから、および、第 2 試薬流路 2 6 と合流点 6 と第 2 混合流路 2 7 とから、それぞれ試薬混合手段が構成されている。

15 第 1 1 図に示すように、第 1 試薬流路 2 4 の上流端となる貫通孔 2 0 の内面には、電極 3 0 が設けてある。また、試料流路 2 3 の上流端となる貫通孔 1 9、第 2 試薬流路 2 6 の上流端となる貫通孔 2 1、および混合流路 2 7 の下流端となる貫通孔 2 2 の内面にも、同様に電極が設けてある。

20 第 1 0 図に示すように、各電極 3 0 は、それぞれ別々の配線 2 8 で、溝付き板 3 1 の液導入側の端部に設けた別々の電極 3 3 と接続されている。この電極 3 3 は検出装置内に設けた電源端子に接続され、各電極 3 3 から、貫通孔 1 9 と貫通孔 2 2 との間、貫通孔 2 0 と貫通孔 2 2 との間、貫通孔 2 1 と貫通孔 2 2 との間に、それぞれ別々に電圧が供給されるようになっている。また、各電極 3 3 に供給する電圧は、検出装置内
25 に設けた電圧制御装置により、試料流路 2 3、第 1 試薬流路 2 4、第 2

試薬流路 2 6 での各設定流量に応じて制御されるようになっている。

5 なお、これらの電極 3 0 , 3 3 および配線 2 8 は、溝付き板 3 1 と被せ板 3 2 とを接着剤により貼り合わせた後、この溝付き板 3 1 の溝面側の反対側の面に、銀や銅などの粒子を含んだ導電性インクの印刷により形成される。また、第 1 1 図に示すように、貫通孔 2 0 の断面が溝面側が窄まるテーパ状に形成してあるため、溝付き板 3 1 の板面を水平に保持した状態で、印刷により貫通孔 2 0 の内面へ電極 3 0 を設けることができる。

10 この分析装置を使用する場合には、先ず、上述のチップの緩衝液用液溜め 2 2 に、所定量の緩衝液を滴下して全流路 2 3 ~ 2 7 内に緩衝液を満たした後、第 1 試薬用液溜め 2 0 に第 1 試薬を、第 2 試薬用液溜め 2 1 に第 2 試薬を、試料を試料用液溜め 1 9 にそれぞれ所定量導入する。次に、電圧制御装置の電圧設定により、貫通孔 1 9 と貫通孔 2 2 との間、貫通孔 2 0 と貫通孔 2 2 との間、貫通孔 2 1 と貫通孔 2 2 との間に、
15 それぞれ別々に、各流路の流量設定値に応じた電気浸透流を発生させる電圧をかける。このとき、各流路の流量設定値は、試料流路 2 3 の流量と第 1 試薬流路 2 4 の流量との比が試料と第 1 試薬との混合比率となり、第 1 混合流路 2 5 の流量と第 2 試薬流路 2 6 の流量との比が試料および第 1 試薬と第 2 試薬との混合比率となるようにする。

20 これにより、各流路内の液体は、電気浸透流により各流路の流量設定値に応じた流量で移動する。具体的には、試料と第 1 試薬とは混合比率に応じた流量で合流点 5 に達し、第 1 混合流路 2 5 で両者の流量の比に応じた比率で混合される。そして、試料と第 1 試薬との反応が終了した後合流点 6 に達し、第 2 混合流路 2 7 を流れる。また、第 2 試薬は、
25 試料に対する混合比率に応じた流量で第 2 試薬流路 2 6 から合流点 6 に達し、第 2 混合流路 2 7 で前記混合比率に応じた比率で、試料と第 1 試

さらに数値的に妥当な吸収率の値を計算してみる。現実的な値として、光路長が1 cmのキューベットを使用した場合に換算した吸光度値として、2 ~ 0.01の範囲に含まれる対象物質を測定するとする。この値は透過率としては1 ~ 97.7%となり、吸収率としては99 ~ 2.27%
5 が得られる。吸収が光路長において均等に行われると仮定すると、光路長50 μ mでは0.495 ~ 0.011%の吸収となる。バックグラウンドとして、測定対象物質による信号の10倍、望ましくは5倍、さらに望ましくは2倍まで許容できるとし、さらに励起光の焦点位置からのずれによるレンズ効果の低下を半分と仮定すると、10倍まで許容した
10 場合は9.9 ~ 0.22%、5倍まで許容した場合は4.95 ~ 0.11%、2倍まで許容した場合は1.98 ~ 0.044%の値が得られる。

すなわち、この値は、光路長が1 cmのキューベットにおいて吸光度が2 ~ 0.01である物質を、深さ50 μ mのキャピラリーに入れて、熱レンズ検出法により計測する場合に許容される、チップを形成する平板状
15 部材の、入射から出射までの間の励起光に対する吸収率を示していることになる。さらに言うと、バックグラウンドの大きさを最も大きく許容するとしても、チップの入射から出射までの間の励起光に対する吸収率が10%になると、現状の吸光度計で1 cmのキューベットを用いて測定
20 可能であった物質の測定が、不可能になることを意味している。したがって、現実的な吸収率の許容範囲の上限は、2 ~ 5%であると言える。この値は、上記の現実のポリマー基材の吸収率と熱レンズ検出法による出力との関係と照らし合わせても、妥当な値と言える。

ただし、将来、現状の光路長が1 cmのキューベットを使用した場合に換算して、吸光度が2をはるかに越えるような測定物質を計測する場合
25 は、許容される樹脂ポリマーの吸収率の値はさらに大きくすることが可能である。さらに言うと、キャピラリーの深さをより深くしても同様の効

果が出て、許容する樹脂ポリマーの吸収率を大きくできるのは言うまでもない。

また、検出光の光軸が、チップ領域での励起光の光軸から大きくはずれている場合は、上述のバックグラウンドの影響を受けないことも自明である。

次に、実際の生化学系の検出に使用したチップの製作法について述べる。

チップを構成する平板状部材は、射出成形により成形する。射出成形に使用した樹脂は、メタクリル樹脂（旭化成工業製デルベツト 560 F）である。ガスとしては純度99%以上の二酸化炭素を使用する。成形機は住友重機械工業製SG50を使用する。金型装置は第16図に示す装置を使用する。

第16図において、金型101の金型キャビティ103の周囲には、パーティング面の隙間102を通して金型キャビティ103に二酸化炭素を吸排気する吸排気用溝104があり、該吸排気用溝104は二酸化炭素の供給源に金型外通気用穴105を通してつながっている。金型キャビティ103の外側には金型キャビティ103を加圧状に保持するためのOリング溝106があり、その中にOリング107を設置する。金型通気用穴105はガス体導管111を通して二酸化炭素源109につながっている。ガス体導管111には圧力計110と安全弁108とが連結されている。

金型表面は、入れ子あるいはスタンパー112で形成され、該入れ子あるいはスタンパー112の表面は微細なキャピラリの形状に加工されている。その微細な形状は、第17図に示す形状であり、a-a'線断面の溝形状は、幅301 μ m、深さ50 μ m、断面積14500 μ m²の台形状（突起）である。

薬との混合液体と混合され、試料と第2試薬との反応が終了した後に検出部29を流れる。

したがって、この分析装置によれば、このチップを後述の検出装置にセットすると、キャピラリー内で試料と第1試薬および第2試薬との所定比率での混合および反応が自動的に行われる。そして、後述の検出装置により検出部29を検出することで、分析成分の検出が自動的に行われる。

る。

本発明をより明確、かつ具体的に記述するため、医療診断などで具体的な測定項目である、血清中のトータルクリスチロール量測定など、試料と2つの試薬溶液の場合を例に説明する。

通常は、試料を例えば3 μ lピペットで秤取りし、例えば200 μ l秤取した第一の試薬溶液（試薬1）と混合し、例えば3分反応させる。その後、その反応液に、100 μ l秤取した第二の試薬溶液（試薬2）を添加し、混合する。所定の時間、例えば10分間反応させた後に、反応混合液中の発色試薬の吸光度を測定することにより、試料中の検出対象物質（コリスチロールなど）の量を求める。

これを、本発明の方法で行うには、試料を30 n l/minで流している流路に、試薬1を2000 n l/minで流している流路を合流させ、2030 n l/minの流量とし、3分間の反応時間が取れるよう流路長を設計する。次いで、この試薬1と試料との混合物流路に、試薬2を1000 n l/minで流している流路を合流させ、3030 n l/minの流量とし、10分間の反応時間が取れるよう流路長を設計し、最後に、流路中で光熱変換検出法などの検出を行う。

すなわち、流量は、ポンプや電圧などで精度良く制御できるので、一定体積の溶液を秤取することなく、定量比での混合反応が可能となる。特に、反応後の液を、特段の分離をせずに直接検出装置にかけられる場

合、例えば、医療診断用のいわゆる生化学項目 I 中の測定では、本発明は特に有用である。

なお、上記説明において、必要に応じて深さを変えるなどして、キャピラリの断面積を変化させることにより線速度を変えてもよいことは、

5 上述の説明と同じである。

流路のパターン例を第 12 図に示す。液だめ 1 は試料用、液だめ 2 は試薬 1 用、液だめ 3 は試薬 2 用、液だめ 4 は廃液用の液だめで、合流点 5 で試料と試薬 1 とが混合され、さらに合流点 6 で試薬 2 が混合される。合流点での両溝の角度はこの場合は直角であるが、第 13 図のように鋭角に合流させることにより、より合流する相手側の圧力による流速変化などの影響を少なくして混合できる。なお、混合をより効率的に行うために、合流部に流れを乱す邪魔板などの突起物を設けてもいいし、合流部分の溝幅を大きくし滞留時間を長くして拡散により混合させることもできる。

15 上述の、特に生化学検査項目のように、試料と試薬とを反応後、分離の必要なく検出ができる場合は、分離のために一定量秤取することなく混合から反応、検出まで一貫した流路で連続的に処理が可能である。一般に、例えば吸収波長の関係で検出すべき成分が他の夾雑物の妨害なく検出できる場合や、試料中の水酸基を酸化して生成したカルボニル基を分光光度計で検出するなど、検出する物質が変化する場合は、分離することなく、所定の流量比での混合、反応から検出まで一貫した流路で処理することができる。

本発明の方法は、長時間連続的に行うことも可能であるが、必ずしも長時間連続的に行う必要はない。例えば、前段の説明において、検出に 10 秒かかるとしたら、最低 10 秒間（通常はやや多めに 20 秒程度）、試薬 1 と試料との合流を行い、その 3 分後に試薬 2 との合流を同じく最

低 10 秒間行えばよい。そして、それから 10 分後に検出を行う。つまり、本発明の方法は、流量制御を経時的にプログラムを行うことに、より、最小限の試薬、試料量で、効率よく、一定体積の秤取をせずに、微量分析を行うことができる。そのため、流量制御の精度とプログラム性、即応性は重要である。流量比の検定については、試料の代わりに標準サンプルを流す事などにより、補正が容易に行える。或いは、製造ロット毎のチップ中の流路サイズを検定しておき、その補正値を用いても良い。

10 本発明の方法を用いると、試料中の一対象だけでなく複数の対象も、流路を共有することにより、すなわち簡単な流路設計にて測定が可能である (第 14 図)。すなわち、上述の説明例において、試薬 1 と試料とを必要時間反応後、少し時間をあけて、所定流量の (試薬 1 と混合するときの流量と同一でなくともよい) 試料と、別の所定流量で流している試薬 3 の流路を合流させる。そして、所定時間反応後、試薬 4 を合流させ、試料と試薬 1、2 との反応生成物の測定後、同じ検出流路を用いて、試料と試薬 3、4 との反応生成物を検出できる。

20 トーナルコレステロール、トリグリセライド、ビリルビンなど試料中の物質量を直接定量する場合は、反応生成物がいわゆるエンドポイントで測定可能であり、検出は最低 1 点でよい。一方、血中の GOT、GPT、 γ GTP 等、試料中の酵素活性を測定する場合は、検出は 1 点でもよいが、より正確を期するため、経時的に複数の測定 (検出) を行うことが好ましい (レートアッセイ (rate assay))。

25 この場合は、検出を、最終反応混合液が流れる流路の複数点、すなわち、最終試薬との合流点からの距離 (すなわち反応時間) が異なる複数の流路上の地点で検出を行えばよい。そのために、検出装置内に複数の検出システムを最終反応混合液の流路上に配置するか、一つの検出シス

5

ツムの場合は、検出（光学）系を移動させるか、または、チップを移動させるかすべし。流路に沿って、熱シムス検出シムスを移動させるか、複数の熱シムス検出端を流路上に配置することによって、反応の経時変化が短時間で、或いは、一瞬で把握できることになる。つまり、流路の長さが、反応時間に相当することになるわけである。このことは、3次元的に重ね合わせた立体チップでは実現が難しく、本発明の平面チップと高感度の熱シムス検出装置とを組み合わせることにより容易となった。

10 (電氣的液送りについて)

本願發明において液送りは、各流動体が所定の流量比で混合するため

に、機械式ポンプ、電氣的方法など、様々な手段を取り得る。その中で、精密かつ簡便な送液制御手段として、電氣浸透流等の電氣的方法が好ましい形態としてあげられる。なお、ここで言う電氣的方法では、電圧を制御する方法と電流を制御する方法とを、それぞれ必要に応じて使い分けることも可能である。

15

電圧の制御により送液の制御を行うものに、キャピラリー中の液体に電界を印加して、電気泳動や、電気浸透流によって電氣的に送液を行う方法がある（「キャピラリー電気泳動」講談社 等に詳しく記載されている）。電気浸透流は、キャピラリー内面表面のイオンの移動によってキャピラリー内の液体と一緒に移動するものであり、キャピラリーがガラスやシリコンで形成される場合は、ガラス表面のケイ酸のプロトンなどが移動力となる。また、PMMAやPCなどの有機ポリマー等からなるチップで、キャピラリー内面に特別のイオン種が存在しない場合でも、キャピラリー内を流す液体の組成によつては、その液体中の電解質をキャピラリー内面に吸着させ、その電解質の移動により電気浸透流を生じさせることがで
きる。安定した電気浸透流を発生させるため、キャピラリー内面の表面に

、スルホン酸基やカルボン酸基を有する有機ポリマーをグラフト重合な
どで付加してもよい。

電気浸透流での送液の場合には、合流する各流路の断面サイズや長さ
を変えたり、各流路への電圧のかけ方を変えたり、各流路キャピラリー内
表面の荷電状態を表面処理等により変えることにより、合流する各流路
5 の流量を変えることができる。

電気浸透流は理論的に、キャピラリー壁面の材質による電位と、キャ
ピラリーに印加される電位差とに比例する。20℃の水を例に電気浸透流
速度を求めると、電位75mVを持つキャピラリーにおいて100V/
10 cmを印加した場合、電気浸透流の速度は0.5mm/sec強の値が
得られる。電気浸透流を発生させる電源には特に特殊な機能は必要では
ないが、キャピラリー長によつては1kV以上の電位差を発生させること
もあり得ることを考えると、高電圧（1kV以上）の出力が可能である
15 ものが好ましいこともあり得る。さらに、この高電圧電源は直接、もし
くはインターフェイスボード等を介して外部のコンピュータにつなが

り、制御できる機能を持つものが好ましい。それにより、電気浸透流を
発生させるための電位差の印加タイミング等をプログラム化し、よりき
め細やかな電気浸透流制御を行うことができる。本発明に係る分析装置
のチップにおいては、試料は、電気浸透流および／または電気泳動で精
20 度良く制御され、分離や他の試薬との反応を行ったあと、その流路の下
流において光熱変換分析に供せられる。特に、精密な制御という観点か
ら、電気浸透流は電圧の制御により細かく即応的に、また、設定したプ
ログラムに従つて正確に流量を制御できるので、流量の比を精密に制御
し必要な化学反応を行う用途では、電気浸透流の採用は好ましい実施態
25 様の一つである。

さらに、酵素等を利用した生体由来物質の検出などに使用されるレ

5 トアッセイ法などのような、反応開始からの時間に応じた反応生成物を定量検出する手法は、キャピラリー断面において速度分布が発生するポンプによる送液では高精度測定に問題が起り得る。しかし、上記のような電気浸透流においては、液の流れは原理的にキャピラリー断面方向で速度の違いのない層流になるため、高精度検出が可能となる。

また、ポンプでは流れの中心部が凸になる層流ができ、熱シフト検出法ではこの凸部の先端と根本部との物質濃度の違いを検出する場合があるが、電気浸透流を用いることにより流体はフラットな層流となるので、安定した検出が可能であることも特徴として挙げられる。

10 ただし、ポンプでの送液でも、キャピラリー内に設けられた邪魔板等によって、液組成の混合、拡散の促進をはかると共に、酵素反応等に十分な流路長を設ける等の対策を取ること、高精度の検出が可能となる。

電気浸透流を発生させる電源としては、高電圧電源装置（例えばMode 1 HCZE-30PN0, 25、松定フレイション社、30kVまで印加可能）を用いるが、これはインターフェイスボード（例えばDAQCard-1200, CB-50

コネクターフロッグ、ナシヨナルインスツルメント社）を介して外部のコンピュータから出力制御できる。電圧の印加タイミング等のプログラミングは、例えばNI-DAQフラインクトウェア、LabVIEWなどで作製できる。

20 以上説明したこの実施形態の分析装置を用いれば、医療現場でのベッ
トサイト診断や、外来患者に受診当日にその日の検査結果を知らせることが可能となるため、その結果に基づく治療薬、治療方法の選択を迅速に行うことができる。また、河川の汚濁、廃棄物中の有害物質の定量定性分析等も、汚染現場で容易に行うことができる。さらには、輸入食品の通関時の汚染検査や、調理現場での即時的な分析も可能となる。

検出対象物質は、化学物質、蛋白、核酸など特に問わないが、環境汚

染化学物質、血液・髄液・唾液や尿中に含まれる生体成分、臓器・組織・粘膜由来の生体成分、感染源となる菌やウイルスなどの蛋白、DNA、RNA、アレルゲン、種々の抗原等が対象となりうる。

以下に、実施例を用いて本発明の効果をさらに具体的に説明する。

5

・実施例 1

本発明の実施例として、エンドポイント法で測定する血清中のトータ
ルコレステロールの定量測定を、脂質測定用標準血清とトータルコレス
テロール検出キット（商品名 コレステロールE-HAテストワコー

10 （和光純薬株式会社製）の2つの検出反応試薬溶液との計3溶液を流
量制御して行った例を示す。送液は電圧の印加による電気浸透流で行っ

た。

（チップの作成について）

まず、キャピラリを備えるチップの製作について述べる。

15 板状有機ポリマー基材の吸光度を測定することで、熱レンズに与える
影響を予測し、使用できるポリマー基材の素材選定の基礎データとした。
その測定方法ならびに結果を記載する。

測定装置には島津製作所製 UV-VIS Recording Spectroph
otometry）を使用した。測定方法は、厚さの違う同一素材の試料を用意
し、光路部全体をふさぐに十分な大きさに切り取った後、測定用セルを
使用せずに、測定セル挿入部に光路に対し板表面が垂直になるように試
料を立てる。まず、用意した同一素材板の内、最も薄い板を用いて
初期補正を行った。実際の測定には参照用として、最も薄い板を使用し、
厚さの違うものを測定試料として吸光度を測定した。測定波長には48
8nm、633nm、780nmの3波長を使用した。以下に使用素材
25 など詳細を記載する。

(1) 測定試料

- (a) 旭化成工業株式会社製 メタクリル樹脂 (デルベツト 560 F : $t = 2 \text{ mm}$, 3 mm)
- (b) 日東樹脂工業株式会社製 アクリル樹脂 (クラレックス : $t = 0.3 \text{ mm}$, 0.5 mm)
- (c) 住友化学株式会社製 アクリル樹脂 (スミベックス : $t = 4.5 \text{ mm}$, 10 mm)
- (d) 三菱レーヨン株式会社製 メタクリル樹脂 (アクリライト : $t = 2 \text{ mm}$, 5 mm)
- (e) 帝人化成株式会社製 ポリカーボネート樹脂 (パソライト AD 5503 : $t = 1 \text{ mm}$, 2 mm)
- (f) 旭化成工業株式会社製 メタクリル樹脂 (テラグラス A : $t = 2 \text{ mm}$, 3 mm)
- (g) 三菱エンジニアリングプラスチック株式会社製 ポリカーボネート樹脂 (ユーピロン・シート : $t = 0.5 \text{ mm}$, 1.0 mm , 2.0 mm)
- (h) タキロン株式会社製 ポリカーボネート樹脂 (PCSM PS600 : $t = 0.5 \text{ mm}$, 1 mm)
- (i) タキロン株式会社製 ポリカーボネート樹脂 (短冊板 : $t = 1 \text{ mm}$, 3 mm)
- (j) タキロン株式会社製 ポリエスチル樹脂 (PETEC PE T6010 : $t = 1 \text{ mm}$, 3 mm)
- (k) タキロン株式会社製 塩化ビニル樹脂 (ESS8800A : $t = 1 \text{ mm}$, 3 mm)
- (l) 明光商会製 ラミネートフィルム (MSパウチ : $t = 100 \mu\text{m}$, $150 \mu\text{m}$)

(2) 測定結果

測定結果を第15図にまとめて示す。なお、(a)～(d)の基材について、熱レンズ検出法による出力の測定も併せて行った。測定は、測定するポリマー基材のみに対し励起光、検出光を照射し、最も高い熱レンズ検出法による出力が得られる焦点位置での値を記録した。この際、試料は現実のチップの厚さ(2mm)に近い厚さを持つものを測定するか、もしくは厚さ違いの2種の測定結果を平均した。

なお、(f)三菱エンジニアリングプラスチック(株)製ポリカーボネート樹脂については、測定場所による熱レンズ検出法による出力のばらつきが大きく、微結晶など光を吸収する物質の偏在が予想される。

第15図に示す結果より、ポリマー基材の本来持つ吸収率(吸光度より換算)と得られる熱レンズ検出法による出力との間に、相関のあることが明らかとなった。(熱レンズ検出の励起光波長: 633nm)

15 リンクス測定として、二枚のガラス板にキシレン・シアノール色素(濃度5μM)を挟んで測定した際の熱レンズ検出装置の出力はおよそ20mVであった。

20 そこで、表面に溝を持つポリカーボネート基材を、先述の明商会製チップで、同様にキシレン・シアノール色素(濃度5μM)を測定しようとしたところ、バックグラウンドとして10mVが検出され、このバックグラウンドにより精密な測定が困難となった。使用したラミネートフィルムは、上述の測定結果より $t=50\mu\text{m}$ ($150\mu\text{m}-100\mu\text{m}$)で0.0085であるため、 $t=100\mu\text{m}$ では吸収率に換算するとおよそ4%に相当する。ただし、この場合、使用したラミネートフィルムには熱硬化性の接着剤が使用されているので、その偏在に

よると思われるバックグラウンド値のばらつきが見られる。しかし、吸

光度の測定では、このばらつきは平均化されるので、部分的な吸収率は4%より大きいと考えられる。また、現実の測定項目として、上記キシレン・シアール色素よりも高濃度の試料を測定する可能性も勘案し、この濃度範囲を測定する場合の、ポリマー基材に許容される励起光の吸収率は5%と言える。この値は、下記数値評価と照らし合わせても妥当な値である。

上記のリフレンス測定における20 mVという測定結果は、医療診

断などで測定される生化学物質の測定においては、ごく標準的な値であり、測定に使用した深さ50 μ mのキャピラリーに換算すると、吸光度の値として0.0005が得られる。本実施例で使用された熱レンズ検出装置において、最も理想的な透明基材と思われる合成石英を使用した場合(バックグラウンド=0 mV)の検出限界としてのロッキングインアンプ出力は0.5 mV程度である。したがって、さらに濃度を1/10にし

た高感度の測定も可能であり、現実の測定値に対しさらに高感度を持つことは、医療診断に限らず、測定系の精度を保つ上で好ましい。しかし

、第15図で示したように、チップに使用するポリマー基材そのものが励起光などに対し吸収を示すと、バックグラウンドとして熱レンズ検出法による出力が出てくるため、誤差が発生する。上記のキシレン・シア

ール色素(濃度5 μ M)での熱レンズ出力20 mVに対し、その1/10の濃度まで測定すると考え、かつ、バックグラウンドの許容範囲を

測定対象物質による信号の10倍、望ましくは5倍、さらに望ましくは2倍まで許容できるとすると、10倍まで許容した場合は20 mV、5倍まで許容した場合は10 mV、2倍まで許容した場合は4 mVとなる。第15図の測定値と併せてこの値を見ると、測定の際につきも考慮して、吸収率は5%以下が望ましく、好ましくは2%以下、さらに好ましくは1%程度であると言える。

樹脂はランナを経てゲートから金型キャビティ 1 0 3 に射出される。

金型表面状態の転写性は、光学顕微鏡による観察やレーザー顕微鏡による形状測定で評価する。

また、成形品も、光学顕微鏡による観察、切断断面の溝形状の光学顕
5 微鏡や電子顕微鏡での観察、レーザー顕微鏡による形状測定等で観察する。

第 1 6 図に示す金型装置を用い、金型キャビティ表面温度 8 0 °C の金型内に、二酸化炭素を 5 . 0 M P a の圧力で満たす。次いで樹脂温度 2 4 0 °C のメタクリル樹脂を金型内に射出し、シリンダ内樹脂圧力 8 0 M
10 P a で 1 0 秒間保圧し、2 0 秒間冷却した後成形品を取り出す。金型に満たした二酸化炭素は、樹脂充填完了と同時に大気中に放出され、表面に溝を有する平板状部材が成形される。

得られた成形品の表面は平滑であり、スタンパーの a - a ' 線断面に相当する部分の転写された溝は、幅 3 0 3 . 0 μm 、深さ 4 9 . 7 μm 、
15 断面積 1 4 3 0 0 μm^2 であった。従って、幅および深さが 2 % 以内、断面積が 4 % 以内の寸法精度で溝が転写されていた。

成形された平板状部材は縦 1 2 0 m m、横 8 0 m m、厚み 2 m m で、第 1 8 図に示す様なパターンの溝が形成されている。液だめのための直径 3 m m の貫通孔が 4 カ所あり、それぞれ液だめ 2 1 3 は試料用、液だめ
20 2 1 4 は試薬 1 用、液だめ 2 1 5 は試薬 2 用、液だめ 2 1 6 は廃棄用である。液だめ 2 1 3 には血球分離フィルターが装着されており、試料（全血）を滴下すると検出を妨害する血球が除かれ、血漿がキャピラリーに送られる。溝の大きさは、溝 2 1 7 が幅 15 μm 、深さ 10 μm 、長さ 1 c m で、溝 2 1 8 は幅 200 μm 、深さ 50 μm 、長さ 1 c m、溝 2 1 9 は幅 203
25 μm 、深さ 50 μm 、長さ 3 c m、溝 2 2 0 は幅 100 μm 、深さ 50 μm 、長さ 4 c m、溝 2 2 1（溝 2 2 0 との合流点から検出部までの長さ）は幅 30

3 μm 、深さ50 μm 、長さ5cmである。この成形品と300 μm 厚みのメタクリル樹脂シートとを、ホットメルト接着剤によって張り合わせてチップを作成する。

そして、チップのキャピラリ内面の電気浸透流の増強および洗浄等の
5 目的で、キャピラリ内を1N-NaOH溶液（和光純薬社製）で満たし、60℃で24時間、加熱する。その後、キャピラリ内を精製水（共栄製薬株式会社製）でpHを指標にして中性になるまで洗浄し、乾燥する。

次に、平板状部材の反対側（貫通孔のある側）に銀粒子を含んだ導電性インク（三井化学製 MSP-600F）で配線および検出装置内の
10 電源端子接続用電極を印刷し、液だめ用電極として白金メッキされた真鍮製鳩目をセットし、チップを完成する（第19図）。

第20図は第19図のc-c'線の断面図である。分析装置には、液だめ213～216に所定の電圧を印加できるような電源装置が装備され、また第19図の符号223で示す位置で光熱変換検出法による検出
15 ができるような検出器が装備されており、さらに検出データから測定結果を計算しアウトプットするプリンターも備えている。

<血清中のトータルコレステロールの定量について>

（標準血清の調製について）

20 協和メディックス社の脂質測定用標準血清の調製法を一部改変して、標準血清を調製した。具体的には、1バイヤルの凍結乾燥品を付属の標準血清溶解液851 μl を用いて溶解し、トータルコレステロールが計算値で800mg/dlになるように調製し、ストック溶液とした。次にストック溶液を付属の標準血清溶液で希釈し、計算値で200mg/dlおよび50mg
25 /dlのトータルコレステロールを含む溶液を調製した。

（検出キットの調製について）

HAテストワコーコレステロールE-HAテストワコー（和光純薬工業株式会社）を用い、付属のプロトコールに従った。

（トータルコレステロールの検出について）

- 液だめ216に緩衝液を約14 μl 滴下し、キャピラリ全体が緩衝液
5 で満たされた後、液だめ214に試薬1を約14 μl 、液だめ215に
試薬2を約14 μl 、液だめ213に試料を約14 μl 滴下した。液だ
め213～215の電極に液だめ216に対して100 Vを印加し、液
だめ213～215から液だめ216へ電気浸透流を発生させた。この
とき、各溝における流量は、溝217が1.5 n l/min、溝218が100
10 n l/min、溝219が101.5 n l/min、溝220が50 n l/min、溝22
1が151.5 n l/minとなるよう、微調整を行った。流速の測定は実験の
便宜上、無極性のビーズ（大塚電子製 ϕ : 520 nm）の流速を測定
することで行った。試料と試薬1との反応時間は3分必要だが、試料が
試薬と混合され溝を進む間で反応が完結するよう、あらかじめ流路の長
15 さおよび印加電圧を設定しておく。試料と試薬2との反応も同様に5分
必要だが、溝を通過中に反応が完結するように、あらかじめ流路の長さ
および印加電圧を設定しておく。反応が終了した試料を、第19図の検
出部223で、後述のように、励起光に波長633 nm、検出光に波長
780 nmのレーザーを用いた光熱変換検出法により検出した。
- 20 流路容積の補正が必要な場合は、チップ内の試料の液だめ213の近
くに標準サンプル用の液だめを準備しておき、試料の測定前または後に
、標準サンプルを試薬1，2と共に送液、反応および測定を行い、その
結果から補正を行う。

- 25 なお、電気浸透流を発生させる電源としては、30 kV まで出力可能
な高電圧電源（Model HCZE-30 PNO、25、松定プレシジョン）を外部のコンピュータに接続し、このコンピュータにより電圧制

御を行った。その際、高電圧電源の出力制御はインターフェイスボード
(DAQ Card-1200、1200CB-50コネクタブロック
、ナショナルインスツルメント)を介して行い、ソフトウェア(NI-
DAQドライブソフトウェア、LabVIEW)により電圧の印加タイ
5 ミング等のプログラムを作成した。

(光熱変換検出装置の構成について)

使用した光熱変換原理に基づく検出装置を第21図に示す(光学部品
の詳細は省略)。顕微鏡としては、ステージ上での試料の取り扱いの容
易さを勘案し、倒立型顕微鏡(IX70、Olympus 製)を使用した。これは
10 別に落射型の顕微鏡であっても構わない。この顕微鏡は、顕微鏡外の光
学系で同軸にされたレーザー光を導入できるよう改造を加えてある。レ
ーザーは励起用にはHe-Ne レーザー(633nm、10mW、エドモン
トサイエンティフィック製)を、検出用には赤外半導体レーザー(78
0nm、15mW、三洋電気株式会社製 DL-4034-151)を
15 使用した。これらレーザーは使用する試薬、生成する反応物の吸収スペ
クトルにより適当な周波数のものを利用すればよい。

また、レーザーはガス、固体、半導体など、種類は制限されない。ミ
ラー、ビームエクspander等の光学系はメスグリオ社製品で統一した。
励起用のレーザー光は、ライトチョッパーにより変調された後、ダイク
20 ロイックミラーにより検出用レーザと同軸にされ、顕微鏡に導かれて試
料に照射される。

照射後に、同軸にされたレーザー光の内、励起光のみを選択的にフィ
ルターにより除去しフォトセンサーに導く。レーザー光受光部分の素子
には、取り扱いの簡便性を考えファイバー付きのフォトセンサーアンプ
25 (C6386、浜松ホトニクス社製)を使用した。このフォトセンサー
受光部はピンホールを持つカバーで覆われている。フォトセンサーおよ

びセンサーアンプからの出力は、低雑音プリアンプ（LI-75A、エヌエフ回路ブロック社製）で増幅した後、ロックインアンプに導かれ信号処理が行われる。

この検出装置によりキャピラリ内の状態を検出する手順は以下の通りである。第21図に示したように、まず、チップを倒立顕微鏡のステージ上に置く。対物レンズの焦点合わせは、励起用レーザーを使用し、モニター画面を参照しながら、キャピラリパターンの上辺、下辺の位置での焦点合わせを実施した後、その中間点をキャピラリの中心位置として行った。

10 なお、上述のように、キャピラリの深さが $50\mu\text{m}$ ～ $100\mu\text{m}$ ならば、対物レンズは $\text{NA}=0.2\sim0.8$ の範囲で調整をすればよく、開口数が 0.2 、 0.4 、 0.6 の中で最適な感度が得られる開口数を選択すればよい。しかし、本実施例の場合、キャピラリ深さが $50\mu\text{m}$ であり、開口数 0.4 の対物レンズを用いた場合に、熱レンズ検出法を用いて最も高い濃度感度が
15 得られた。この状態で、十分に有意な値が出ることを確認すると共に、励起光の迷光が光検出器に入っていないことを確認するため、励起光のみが入射した状態で、先述の熱レンズ検出法による出力が十分に小さくなることを確認する。次に、検出光のビームエクスペンダーの収束角を調整し、熱レンズ検出法による出力を見ながら、信号が最大になる位置
20 に調整する。

この際、本実施例での最適な焦点位置を求めるため、チップと対物レンズとの距離の変化が判るよう、チップをZ方向距離に μm 単位で制御可能なX-Zステージ（シグマ光機製）に載せ、チップをZ方向に移動させた際の熱レンズ検出法による出力の変化を調べた。その結果を図2
25 2に示す。本実施例の場合、極微小領域での測定よりは、ある領域での濃度感度を重視するため、励起光の焦点は必ずしもキャピラリの中心とな

っていない。濃度感度の点では、この励起光の照射はキャピラリ全体を覆う方向が有利であるが、逆に励起光を広げ過ぎると測定領域内での励起光強度が弱くなり、温度拡散の影響などを受けて熱レンズ検出法による出力が弱まるため、最適値が存在する。本実施例の場合、図 2 2 に示す

5 ように、励起光の焦点位置、すなわち、照射側から見てキャピラリの反対側の平板状部材中の、キャピラリからの距離 $160\text{ }\mu\text{m}$ の位置を中心に、 $\pm 50\text{ }\mu\text{m}$ の範囲で熱レンズ検出法による出力が得られている。この最適値は、キャピラリの幅、深さにより変化することは自明であるが、濃度感度を高めるためには、キャピラリ内の温度変化領域を広く取る

10 方が好ましいことは変わりがない。

焦点合わせを実施した後、前述のようにチップ内に試料と試薬とを導入して、試料と試薬との混合および反応を行わせ、反応生成物を含む溶液を検出部に導く。

励起用レーザーは、ライトチョッパーにより例えば 116 Hz に変調して

15 ておき、検出部を流れる液体に含まれる反応生成物を励起して発熱させる。このライトチョッパーによる変調の周波数は SN 比等の影響により変更することも有り得る。この発熱で発生した熱レンズにより検出用レーザーの焦点位置がずれ、それによりピンホールを通してフォトセンサーの受光量が発熱量に応じ変化するため、この変化量から試料に含まれる

20 所定成分を分析することができる。

測定時には、試料の流れは停止させても流した状態でも構わないが、本実施例では停止させて測定を行った。フォトセンサーからの信号はロックインアンプにより処理されるが、ここでは時定数として 1 秒を用い、

25 ライトチョッパーと同じ周波数 116 Hz の信号のみを選択的に出力として用いた。ロックインアンプの出力電圧は、励起光により励起される反応生成物の濃度に比例するため、反応生成物の定量化が可能である。

本実施例の結果では、800mg/dℓ および50mg/dℓ のトータルコレステロールを含む標準血清による5回の測定により検量線を作成し、200mg/dℓ 相当のトータルコレステロールを含む標準血清の測定を20回行ったところ、CV値3%の値が得られた。以上の結果より、当該「分析装置」を用いて、試料中のトータルコレステロールを再現よく検出することができた。

・実施例2

本発明の一実施例として、rate法で測定する血清中のアスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ (GOT) 活性の定量を、標準血清とアスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ (GOT) 活性測定キット (TA-LNカイノス (カイノス株式会社製)) を改変した1つの反応試薬との計2溶液を流量制御して行った例を示す。なお、レイトアッセイなので、反応停止液は用いなかった。

(チップを含む分析装置の作製について)

まず、実施例1において、金型内に満たす二酸化炭素の圧力を2.0 MPaに、使用するメタクリル樹脂を70NHXに、入れ子およびスタンパーを、第23図に示すパターンを有するものに変更する以外は、実施例1と同様にして、射出成形によりチップを成形する。

チップを構成する平板状部材は、縦12cm、横8cm、厚み2mmで、第23図に示す様なパターンの溝が形成されている。液だめのための直径3mmの貫通孔が3カ所あり、それぞれ液だめ319は試料用、液だめ320は試薬1用、液だめ321は廃棄用である。液だめ319には血球分離フィルターが装着されており、試料(全血)を滴下すると検出を妨害する血球が除かれ、血漿がキャピラリに送られる。溝の大きさは、溝301が幅30μm、深さ30μm、長さ1cmで、溝302が幅30μm、深さ30μm、長さ1cmで、溝303が幅60μm、深さ30μm、長さ5cmで

ある。

次に、チップのキャピラリの内面を洗浄する等の目的で、キャピラリ内を1N-NaOH溶液（和光純薬社製）で満たし、60℃で24時間、加熱する。その後、キャピラリ内を精製水（共栄製薬株式会社製）でpHを指標にして中性になるまで洗浄し、乾燥する。

この平板状部材に、該平板状部材と同寸法で厚さ200 μmのPMMAの被せ板（平板状部材）を、接着剤で張り合わせキャピラリを形成する。次に、送液用の通電にも用いられるように、平板状部材の反対側（貫通孔のある側）に銀粒子を含んだ導電性インク（三井化学製 MSP-600F）で、配線と液だめ用電極および検出装置内の電源端子接続用電極とを印刷して分析用チップを完成する（第24図）。液だめはチップを傾けることなく内壁に印刷可能なようにテーパ形状で形成しておく。

第25図は第24図のa-a'線の断面図である。分析装置には、液だめ319～321に所定の電圧を印加できるような電源装置が装備されている。これら電極は本実施例2では使用しないが、電気浸透流を送液手段に使用する後述の実施例4では使用される。また、第24図の329の位置で光熱変換検出法による検出ができるよう検出器が装備されており、さらに検出データから測定結果を計算しアウトプットするプリンターも備えられている。

20 （検出キットの調製について）

検出キットとして、カイノス社に特別に作製依頼を行い購入したTA-LN カイノス（カイノス株式会社）を用いた。市販品と異なる点は、GOT基質緩衝液中から、N-エチル-N-(2-ヒドロキシ-3-スルホプロピル)-m-トルイジン、ナトリウム塩(TOOS)のみを除いた検出試薬に、3,5-ジメトキシ-N-エチル-N-(2-ヒドロキシ-3-スルホプロピル)-アニリンナトリウム(DAOS)（同仁化学研究所株式会社）を10mMの濃度になるように溶解したものをGOT基質緩衝液として用いたことであ

る。

次に、GOT 反応試薬 1 バイアルを GOT 基質緩衝液 8ml で溶解し試薬 1 とした。この操作は、試薬 1 と後述する希釈血清との混合比を 1:1 にするために行った。また、TA-LN カイノスの標準プロトコールで使用される反
5 応停止液は、rate法で検出を行うために未使用とした。

(標準血清の調製について)

本実施例では、全血ではなく血清を用いた。

標準血清は、スイトロールA(日水製薬株式会社製)の調製方法を一部
10 改変して調製した。具体的には、1 バイアルの凍結乾燥品を精製水(共栄製薬株式会社製) 1174 μl を用い溶解し、計算値で GOT の活性が 600 $\mu\text{mol/min}$ 単位 (KU) になるように調製し、ストック溶液とした。次に、ストック溶液を精製水(共栄製薬株式会社製)で希釈し、計算値で 300KU および 150KU 並びに 75KU の活性を示す GOT を含む血清溶液(以下、GOT 希釈血清と呼ぶ)を調製した。さらに、改変した TA-LN カイノスの GOT 基質
15 緩衝液で、既に調製した 75KU, 150KU, 300KU の GOT 希釈血清を容量比で 26 倍に希釈し GOT 検出評価に用いた。すなわち、GOT 希釈血清 10 μl に、改変した GOT 基質緩衝液を 250 μl 加えたものを調製した。

(GOT の検出について)

Y 字状のキャピラリの上部の両端には、試薬 1 および希釈血清をそれ
20 それ入れたマイクロシリンジ(ハミルトン社製)をテフロンチューブとゴム栓とを用いて連結した。

予め使用する溶液を 37°C に予備加温し、マイクロシリンジをシリンジポンプ(ハーバード社製)に装着し、送液を行った。

このとき、各溝における流量は溝 301 が 1.5 n l/min 、溝 302
25 が 1.5 n l/min 、溝 303 が 3.0 n l/min とした。

励起光に波長 633 nm、検出光に波長 780 nm のレーザーを用い

た光熱変換検出法により、液だめ 3 2 1 から液だめ 3 1 9 と液だめ 3 2 0 との混合部に向かって一定の速度でスキanningすることで、反応が完結している部位から各反応途上点に至るまでの測定を行った。

- すなわち、光熱変換検出法による濃度測定を行う点を、溝に沿って 1
5 . 5 cm/secの速度で移動させる。具体的には、1 秒間移動後に、溝の近傍に配置した位置決め印を認識することにより精密に位置決めを行い、目視により焦点を合わせ、10秒間各測定位置にて光熱交換法により検出を行った。つまり、該実施例では、位置決め印の配置する間隔によって rate 法の特徴である検出値の変化率を、短時間で検出することができる。
- 10 流路容積の補正が必要な場合は、チップ内の試料の液だめの近くに標準サンプル用の液だめを準備しておき、試料の測定前または後に、標準サンプルを試薬 1 と共に送液、反応および測定を行い、その結果から補正を行う。

(光熱変換検出装置の構成について)

- 15 光熱変換原理に基づく検出装置には、実施例 1 と同じものを用いた (第 2 1 図)。

- 顕微鏡としては、ステージ上での試料の取り扱いの容易さを勘案し倒立型顕微鏡 (IX70、Olympus 製) を使用した。これは別に落射型の顕微鏡であっても構わない。この顕微鏡は、顕微鏡外の光学系で同軸にされたレーザー光を導入できるよう改造を加えてある。レーザーは励起用には He-Ne レーザー (633 nm、10 mW、エドモントサイエンティフィック製) を、検出用には赤外半導体レーザー (780 nm、12 mW、三洋電気株式会社製 DL-4034-151) を使用した。これらレーザーは使用する試薬、生成する反応物の吸収スペクトルにより、適
25 当な周波数のものを利用すればよい。

また、レーザーはガス、固体、半導体など、種類は制限されない。ミ

ラー、ビームエクパンダー等の光学系はメスグリオ社製品で統一した。励起用のレーザー光は、ライトチョッパーにより変調された後、ダイクロミックミラーにより検出用レーザーと同軸にされ、顕微鏡に導かれ試料に照射される。

- 5 照射後に、同軸にされたレーザー光の内、励起光のみを選択的にフィルターにより除去しフォトセンサーに導く。レーザー光受光部分の素子には、取り扱いの簡便性を考えファイバー付きのフォトセンサーアンプ（C 6 3 8 6、浜松ホトニクス社製）を使用した。このフォトセンサー受光部はピンホールを持つカバーで覆われている。フォトセンサーおよびセンサーアンプからの出力は、低雑音プリアンプ（LI-7 5 A、エヌエフ回路ブロック社製）で増幅した後、ロックインアンプに導かれ信号処理が行われる。
- 10

- この検出装置によりキャピラリー内の状態を検出する手順は以下の通りである。第 2 1 図に示したように、まず、チップを倒立顕微鏡のステージ上に置く。前述のようにチップ内に試料と試薬とを導入し、試料と試薬との混合、反応を行わせる。測定の実施に際しては、先述のようにステージを 0.5 cm/sec の速度で移動させ、1 秒移動後にキャピラリーの近傍に配置した位置決め印を認識することで、精密に位置決めを行う。対物レンズの焦点合わせは、励起用レーザーを使用し、モニター画面を参照しながら、溝パターンの上辺、下辺の位置での焦点合わせを実施した後、その中間点を溝の中心位置として行った。
- 15
- 20

- 励起用レーザーは、ライトチョッパーにより 114 Hz に変調しておき、検出部を流れる液体に含まれる反応生成物を励起して発熱させる。このライトチョッパーによる変調の周波数は、SN比等の影響により変更することも有り得る。この発熱で発生した熱レンズにより検出用レーザーの焦点位置がずれ、それによりピンホールを通してフォトセンサーの
- 25

受光量が発熱量に応じ変化するため、この変化量から試料に含まれる所定成分を分析することができる。

5 フォトセンサーからの信号はロックインアンプにより処理されるが、ここでは時定数として1秒を用い、ライトチョッパーと同じ周波数114 Hzの信号のみ選択的に出力として用いた。ロックインアンプの出力電圧は、励起光により励起される反応生成物濃度に比例するため、反応生成物の定量化が可能である。

10 本実施例の結果では、300KU および75KUの活性を示すGOT を含む標準血清による5回の測定により検量線を作成し、150KU 相当のGOT 活性を示すGOT 希釈血清の測定を20回行ったところ、CV値1%の値が得られた。以上の結果より、当該「分析装置」を用いて、試料中のGOT 活性を再現よく検出することができた。

・実施例3

15 検出光として、488nmに発光をもつArレーザーを用いた以外は、実施例2と同様の光熱変換検出装置を用い、また、実施例2と同様にして射出成形で作成したPMMA製のY字状流路チップ（第23図）を用いて、トータルコレステロールの測定を行った。該チップのY字状流路の溝巾は200μmで、深さは50μmである。試薬はワコー社のコレステロールEーテストワコーを用いた。Y字状流路の上部の両端には、発色試薬および希釈標準血清を各々入れたマイクロシリンジ（ハミルトン社製）をテフロンチューブで連結した。試薬濃度は、発色試薬と希釈標準血清とが、流量比1：1で混合されたとき、試薬キット所定の濃度になるように調製した。すなわち、規定の半量の緩衝液を用い発色試薬の
20 溶解を行い、実施例1に準ずる方法にて調製した標準血清を、該緩衝液
25 を用い75倍に希釈した。送液にはシリンジポンプ（ハーバード社製）

を用い、発色試薬および希釈標準血清の各々の流量を等しくし、かつ混合後の反応時間が3分となるよう流速を調節して、Y字状流路の下部の廃液溜に向かってポンプ送液を行った。温度は30度になるよう、チップの下に銅板とシートヒータとを設置し、熱電対と温度調節器とにより調節を行った。

熱レンズ検出法による出力の測定結果を第26図に示す。

・実施例4

送液方法を電気浸透流とし、検出試薬としてワコー社コレステロールE-HAテストワコーを用いた以外は、実施例3と同様の装置、チップを用いて、トータルコレステロールの検出反応を行った。Y字状流路（第23図）の各端には、貫通孔を介して、高さ6mm、直径4mm程度の円筒形の液だめを、溝と反対側のチップ表面に装着した。次に、チップのキャピラリ内面の電気浸透流の増強および洗浄等の目的で、キャピラリ内を1N-NaOH溶液（和光純薬社製）で満たし、60℃で24時間、加熱する。その後、キャピラリ内を精製水（共栄製薬株式会社製）でpHを指標にして中性になるまで洗浄し、乾燥する。

そして、平板状部材に、該平板状部材と同寸法で厚さ200μmの被せ板を接着剤で張り合わせ、キャピラリを形成させる。次に、送液用の通電にも用いられるように、平板状部材の反対側（貫通孔のある側）に銀粒子を含んだ導電性インク（三井化学製 MSP-600F）で、配線と液だめ用電極および検出装置内の電源端子接続用電極とを印刷して、チップを完成する（第24図）。なお、液だめは、チップを傾けることな内壁に印刷可能なようにテーパ形状で形成しておく。

第25図は第19図のc-c'線の断面図である。

実施例1に準ずる方法で調製した希釈標準血清と酵素液Aは、あらか

じめ混合し、37℃で5分間反応させた後、Y字状流路の上部の一端の液だめ319に入れた。そして、上辺の另一端の液だめ320には酵素液Bを入れた。試薬濃度は、液だめ319の液と液だめ320の液とが1:1に混合されたときに、試薬キット所定の濃度になるよう調製した。Y字状流路の下端部は廃液だめとし、流路と廃液だめとを酵素液A溶解用の試薬キット添付のバッファーで満たし、各液だめの液面レベル差がなくなるよう液面高さを調節した。各液だめには白金線電極を入れ、25V/cmの電位勾配を形成する状態を基本として、廃液だめを0Vとして、試料・酵素液A混合液だめ319および酵素液B液だめ320の電極に電圧を印加し、液だめ319から廃液だめ321への流量と、液だめ320から廃液だめ321への流量とが1:1になるように電圧を調整した。

実験の都合で温度は室温(26℃)で行った。

熱レンズ検出法による出力の測定結果を、第27図に示す。

15

産業上の利用可能性

本発明の分析装置は、量産性がよく、かつ取り扱い性のよい、流動体の流れる微細なキャピラリを有する有機ポリマー製のチップと、高感度で小型化が容易な光熱変換検出装置とからなる分析装置であるため、チップの廃棄性に優れ、安価で簡便かつ短時間に分析ができ、POC分析等に適した分析装置を提供できるものである。

25

請 求 の 範 囲

1. キャピラリ内に流動体状の試料、もしくは、流動体状の試料および流動体状の試薬を流して、前記試料中、もしくは、前記試料および前記試薬の混合流動体中の所定成分を分析する分析装置であって、
- 5 少なくとも一部が有機ポリマーにより構成され、前記キャピラリを備えたチップと、
- 前記所定成分に励起光を照射して、その結果生じる前記キャピラリ内の部分的な温度変化に伴う物理量変化を測定する光熱変換検出装置と、
- 10 からなることを特徴とする分析装置。
2. 前記チップが、少なくとも一方がその板面に溝を備え、少なくとも一方が有機ポリマー製である一对の平板状部材を、前記溝を備えた板面を内側にして張り合わせるにより構成されることを特徴とする請求の範囲第1項記載の分析装置。
- 15 3. 前記物理量変化が屈折率変化であり、前記光熱変換検出装置は、前記屈折率変化により形成される熱レンズに検出光を入射させ、前記熱レンズにより生じる前記検出光の変化を測定する装置であることを特徴とする請求の範囲第1項または第2項記載の分析装置。
4. 前記チップを構成する部材が前記励起光を吸収することによって、実質的に光熱変換効果を生じないことを特徴とする請求の範囲第1項～第3項のいずれかに記載の分析装置。
- 20 5. 前記チップを構成する部材は、前記励起光の吸収率が5%以下であることを特徴とする請求の範囲第4項記載の分析装置。
6. 前記キャピラリ内の部分的な温度変化を、前記所定成分を分析するのに十分な濃度感度を得られるような範囲に生じさせるように、前記励起光の集光度が調整してあることを特徴とする請求の範囲第1項～
- 25

第 5 項のいずれかに記載の分析装置。

7. 前記励起光の集光度は、前記キャピラリに前記励起光を照射する対物レンズの開口数で調節されていることを特徴とする請求の範囲第 6 項記載の分析装置。

5 8. 前記キャピラリは、前記試料を流す試料流路と、前記測定を行う流路とを有することに加えて、前記試料流路と前記測定を行う流路との間に、少なくとも一つの試薬混合手段を有し、

前記試薬混合手段は、前記試薬を流す少なくとも一つの試薬流路と、前記試料流路側から流れてくる流動体と前記試薬流路から流れてくる前記試薬との合流点と、この合流点より下流側に設けられ、前記試料流路側から流れてくる流動体と前記試薬流路から流れてくる前記試薬とを所定比率で混合して所定時間反応させる混合流路と、から構成され、

10

前記試薬混合手段が複数の場合には、各試薬混合手段は直列関係に配設され、

15 さらに、前記試料流路および前記試薬流路の流量を前記混合比率に応じて調整する流量調整機構を備えたことを特徴とする請求の範囲第 1 項～第 7 項のいずれかに記載の分析装置。

9. 前記キャピラリは、前記試料と前記試薬とが連続的に流され、前記混合流路は、その直前の合流点で合流した流動体が、所定の流速下で、所定の混合および反応を終了するために必要な時間流動するのに十分な長さの流路であることを特徴とする請求の範囲第 8 項記載の分析装置。

20

10. 前記試料に電圧を印加する、もしくは前記試料および前記試薬に別々に電圧を印加することにより、前記試料、もしくは前記試料および前記試薬を流すことを特徴とする請求の範囲第 1 項～第 9 項のいずれかに記載の分析装置。

25

1 1 . 前記試料が生物学的材料に由来する試料であることを特徴とする請求の範囲第1項～第10項のいずれかに記載の分析装置。

1 2 . 前記一对の平板状部材の少なくとも一方は、圧縮成形法、エンボス成形法、射出成形法、ガス存在下で樹脂のガラス転移点を下げる
5 射出成形法、射出圧縮成形、電磁誘導による金型表面加熱射出成形法のいずれか、またはこれらの組み合わせにより成形された有機ポリマー製の平板状部材であることを特徴とする請求の範囲第2項記載の分析装置。

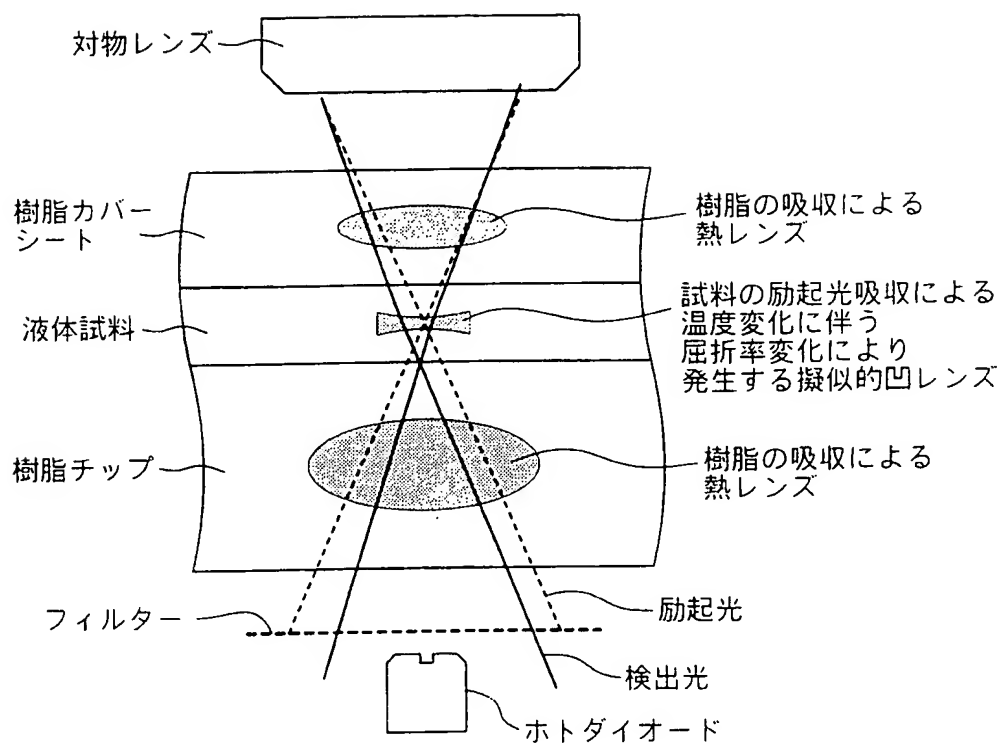
1 3 . 前記ガス存在下で樹脂のガラス転移点を下げる射出成形法において使用されるガスが、炭酸ガスであることを特徴とする請求の範囲
10 第12項記載の分析装置。

15

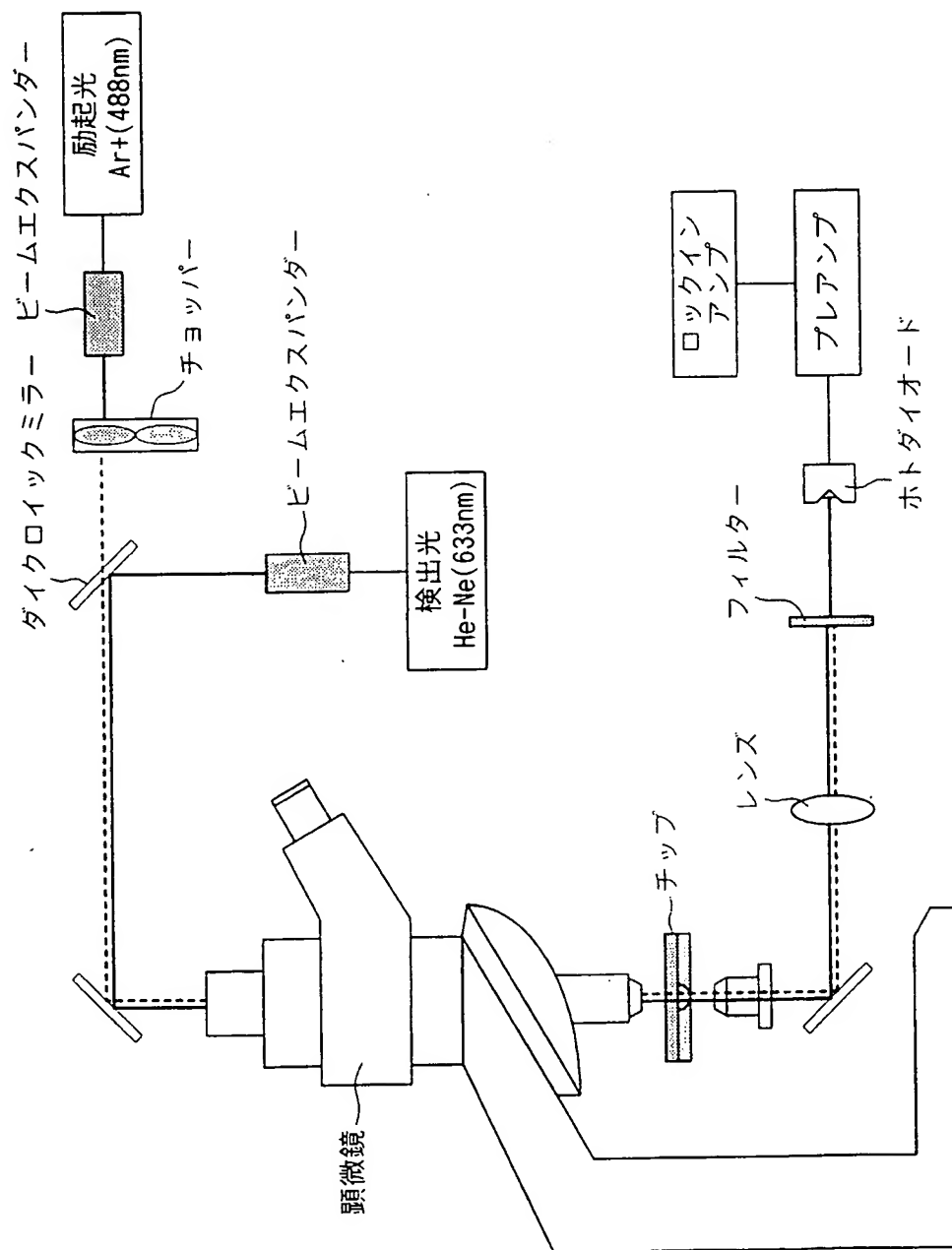
20

25

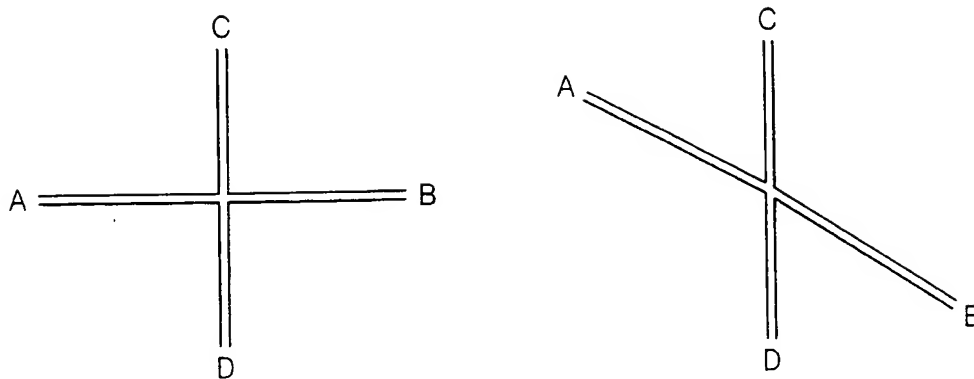
第1図



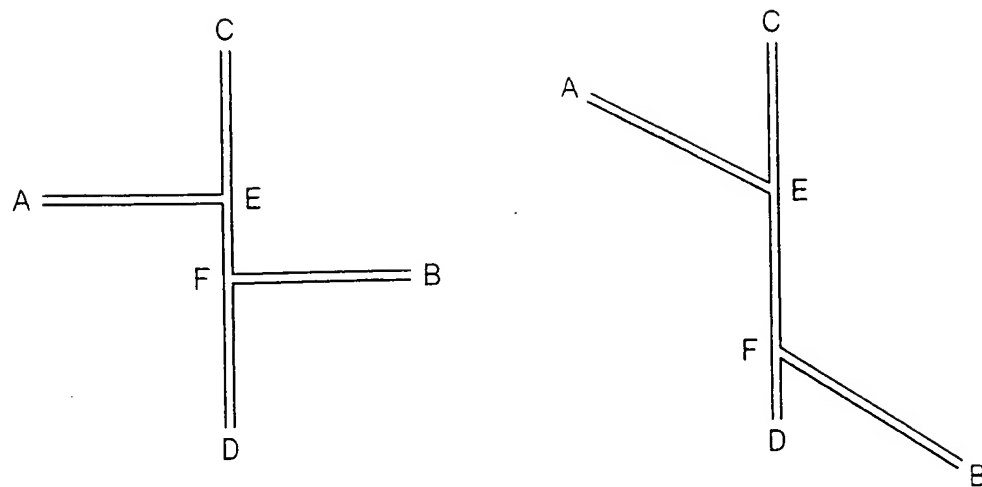
第2図



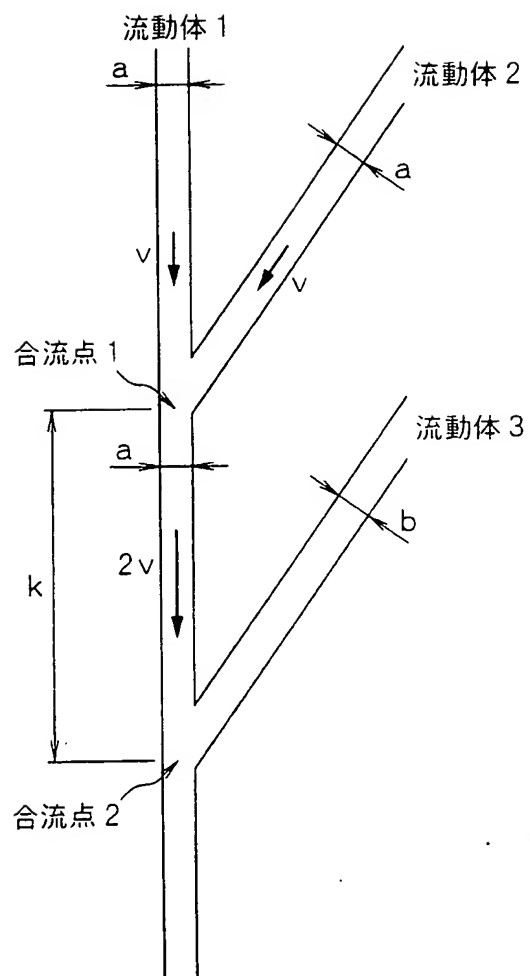
第3図



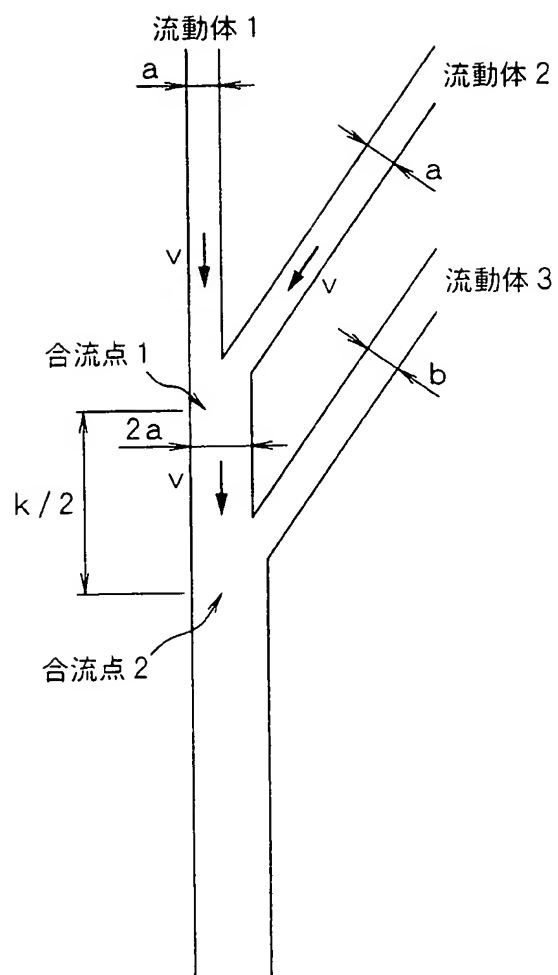
第4図



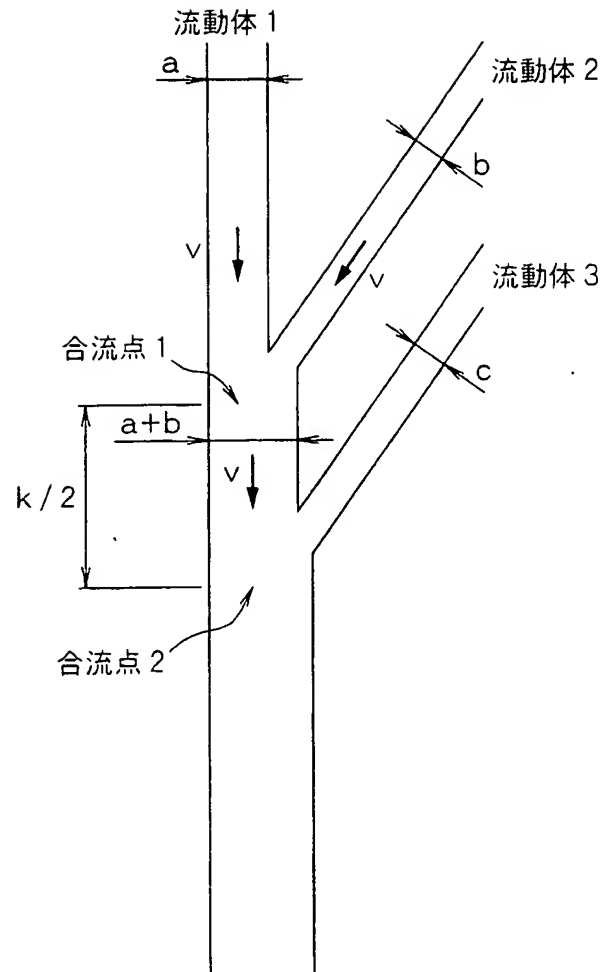
第 5 図



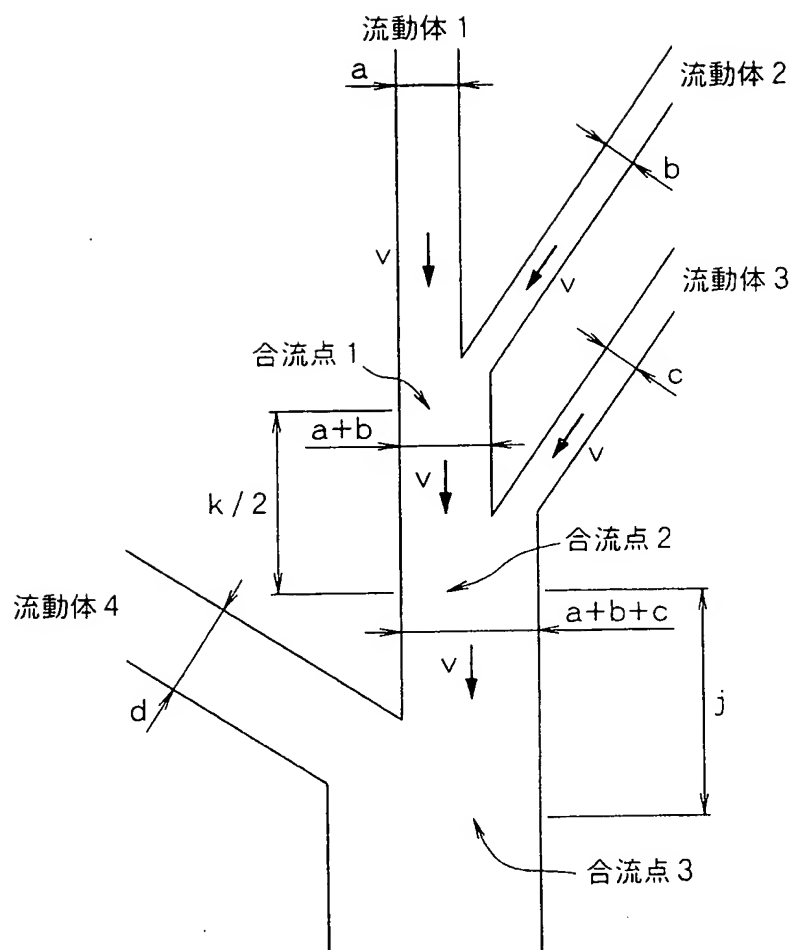
第6図



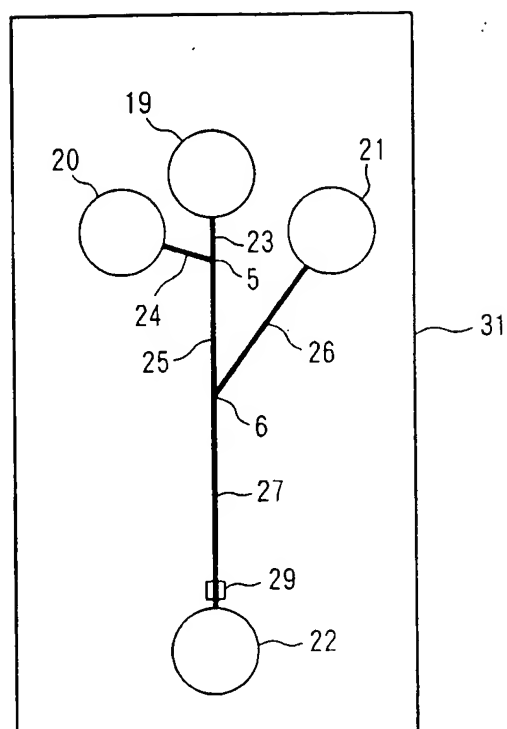
第7図



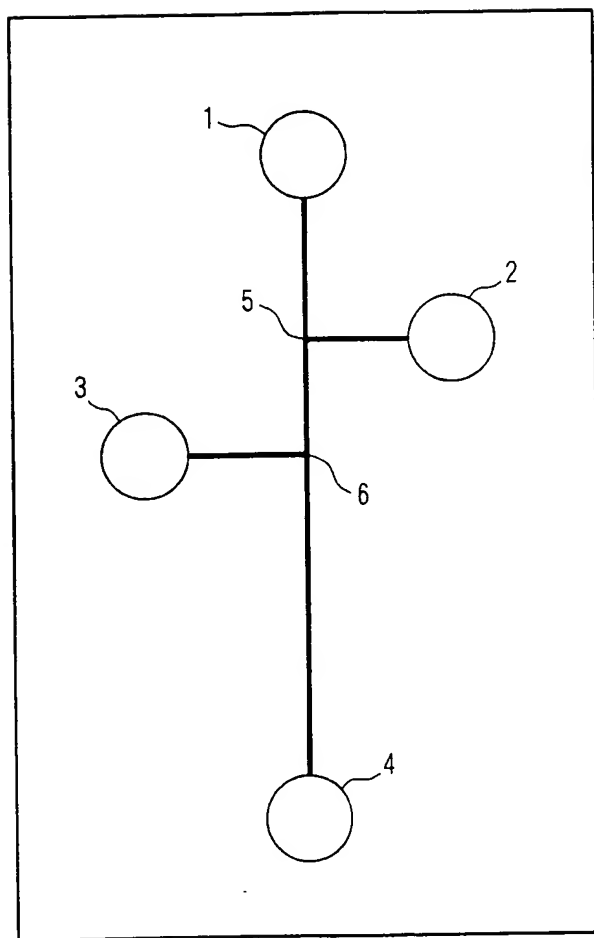
第8図



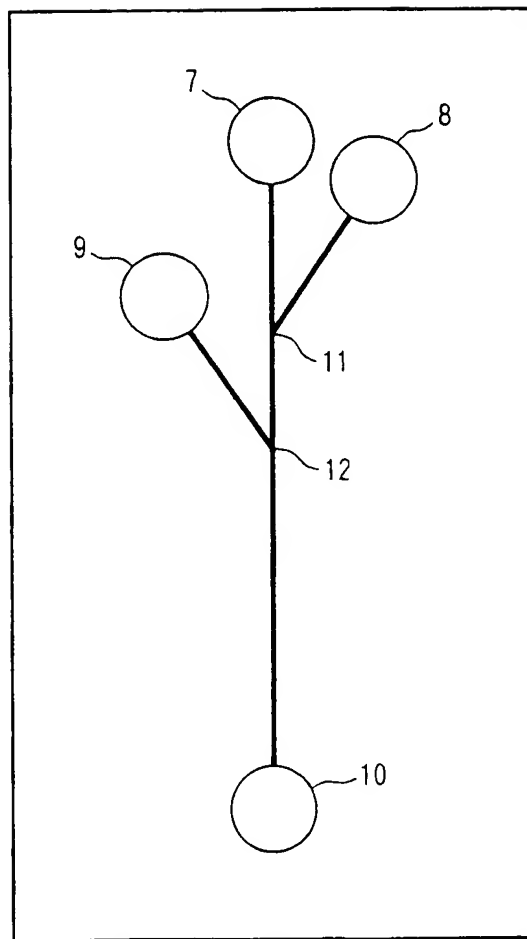
第 9 図



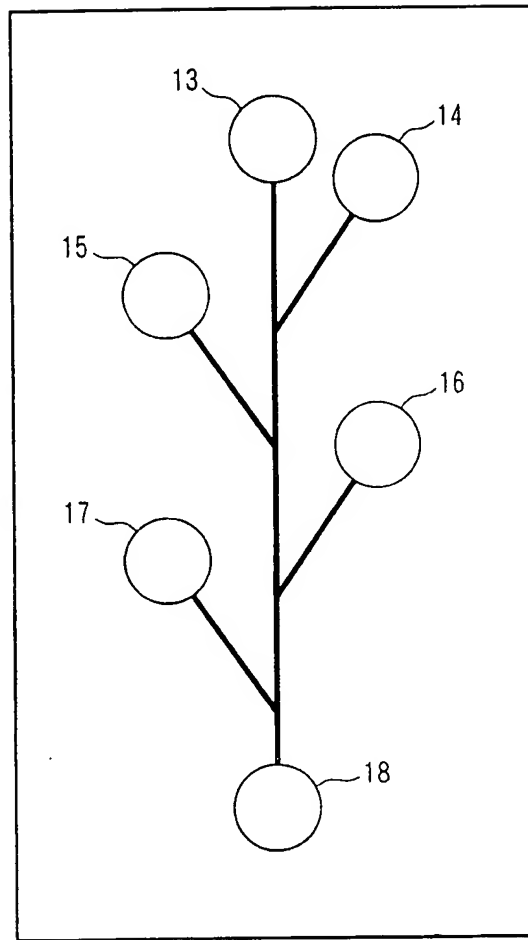
第12図



第13図



第14図



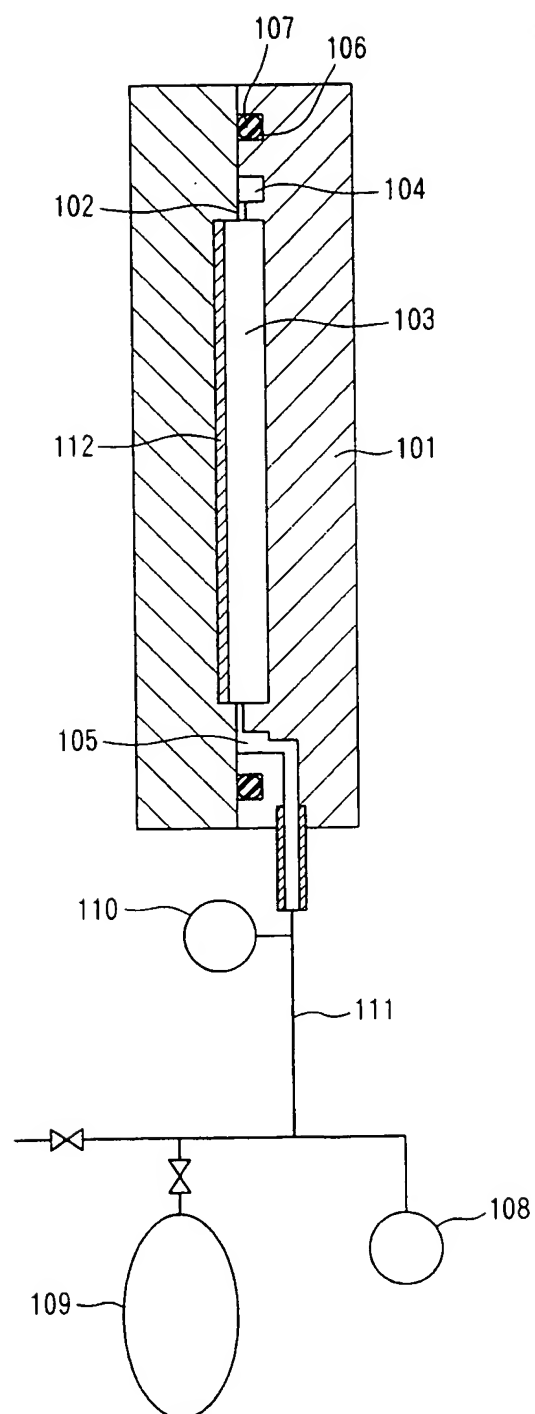
第15図

レーザー波長	(a)	(b)	(c)	(d)	(e)	(f)	(g)	(h)	(i)	(j)	(k)	(l)
488nm	吸光度	Ave.	---	0.0008	0.0007	0.0010	0.0030	0.0010	0.0023	0.0078	0.0513	0.0132
		SD	---	0.0033	0.0034	0.0014	0.0000	0.0009	0.0005	0.0031	0.0046	0.0073
	t=2.3mm換算 吸収率	0.53%		0.15%	0.37%	0.53%	1.06%	1.06%	1.22%	2.05%	12.81%	※5.99%
633nm	吸光度	Ave.	---	---	---	---	0.0030	0.0011	0.0043	0.0073	0.0453	0.0085
		SD	---	---	---	---	0.0000	0.0009	0.0005	0.0029	0.0041	0.0050
	t=2.3mm換算 吸収率						1.06%	1.16%	2.27%	1.92%	11.40%	※3.88%
780nm	吸光度	0.0011	0.0025	0.0048	0.0020	0.0022	0.0025	0.0008	---	0.0090	0.0202	0.0048
		0.0009	0.0008	0.0017	0.0009	0.0011	0.0005	0.0010		0.0028	0.0041	0.0055
	t=2.3mm換算 吸収率	0.59%	0.89%	0.46%	1.06%	1.16%	0.89%	0.87%		2.36%	5.22%	※2.20%
熱シフト検出法による出力 (励起:633nm) Polymer本体	約0.2mV	約0.2mV	約0.2mV	約0.2mV	約0.2mV	0.3mV	2.6mV	0.9mV	10.2mV	1.8mV	47mV	10mV

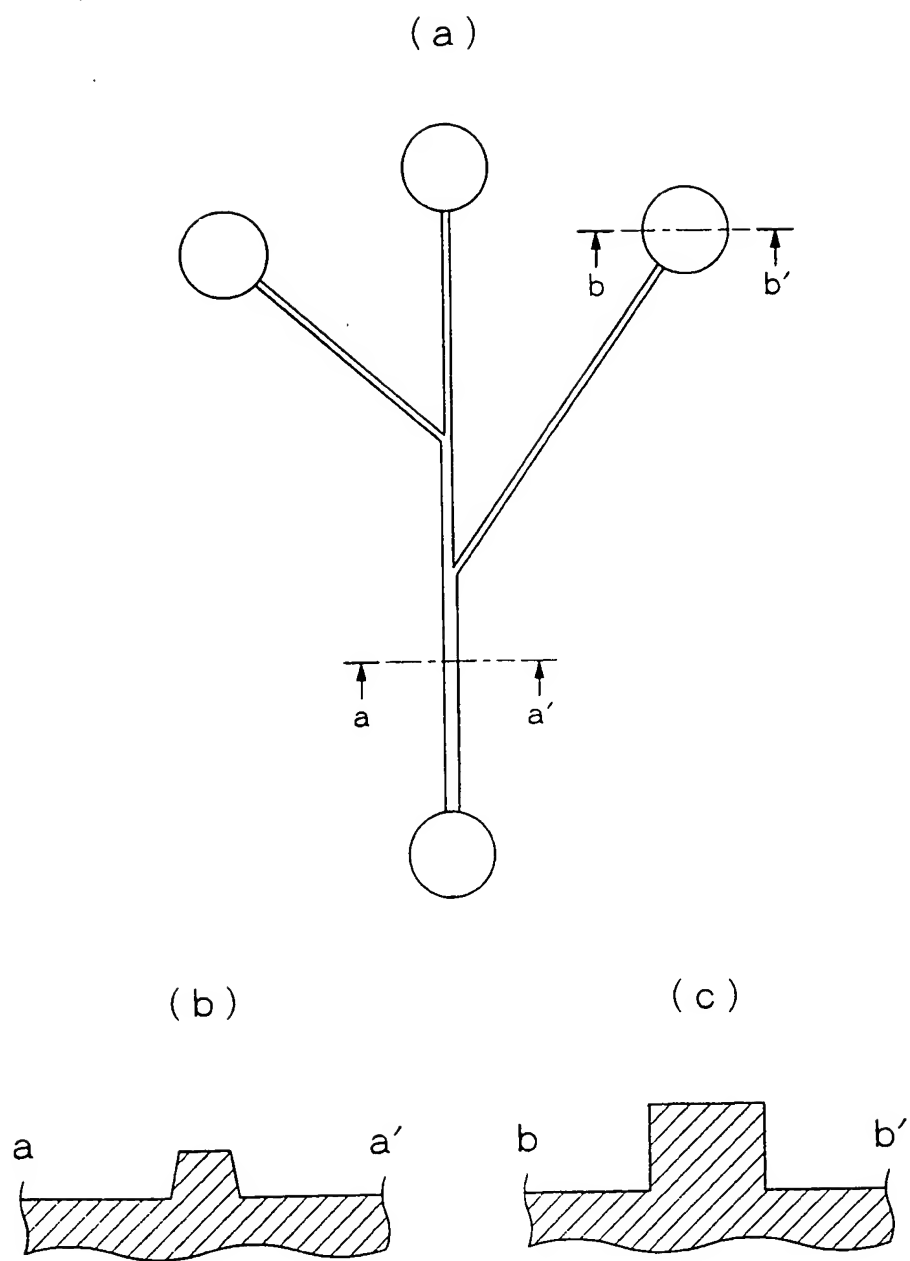
---は測定限界以下を示す。

※t=100μmの時の値

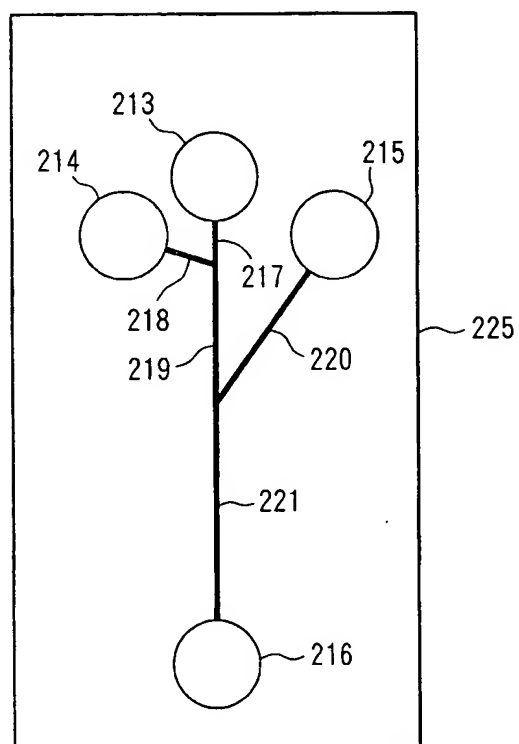
第16図



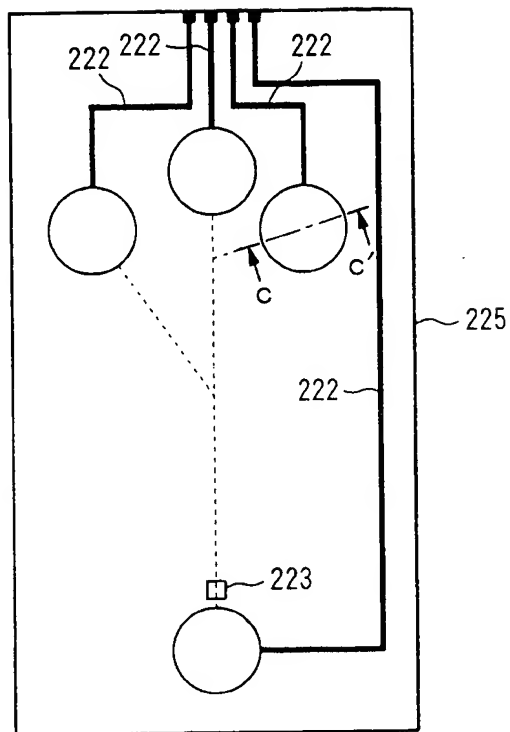
第17図



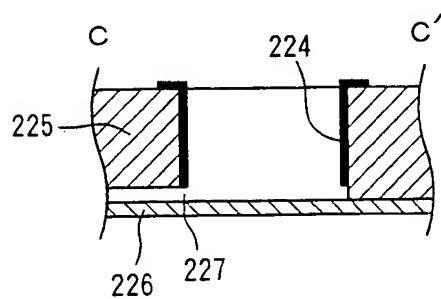
第18図



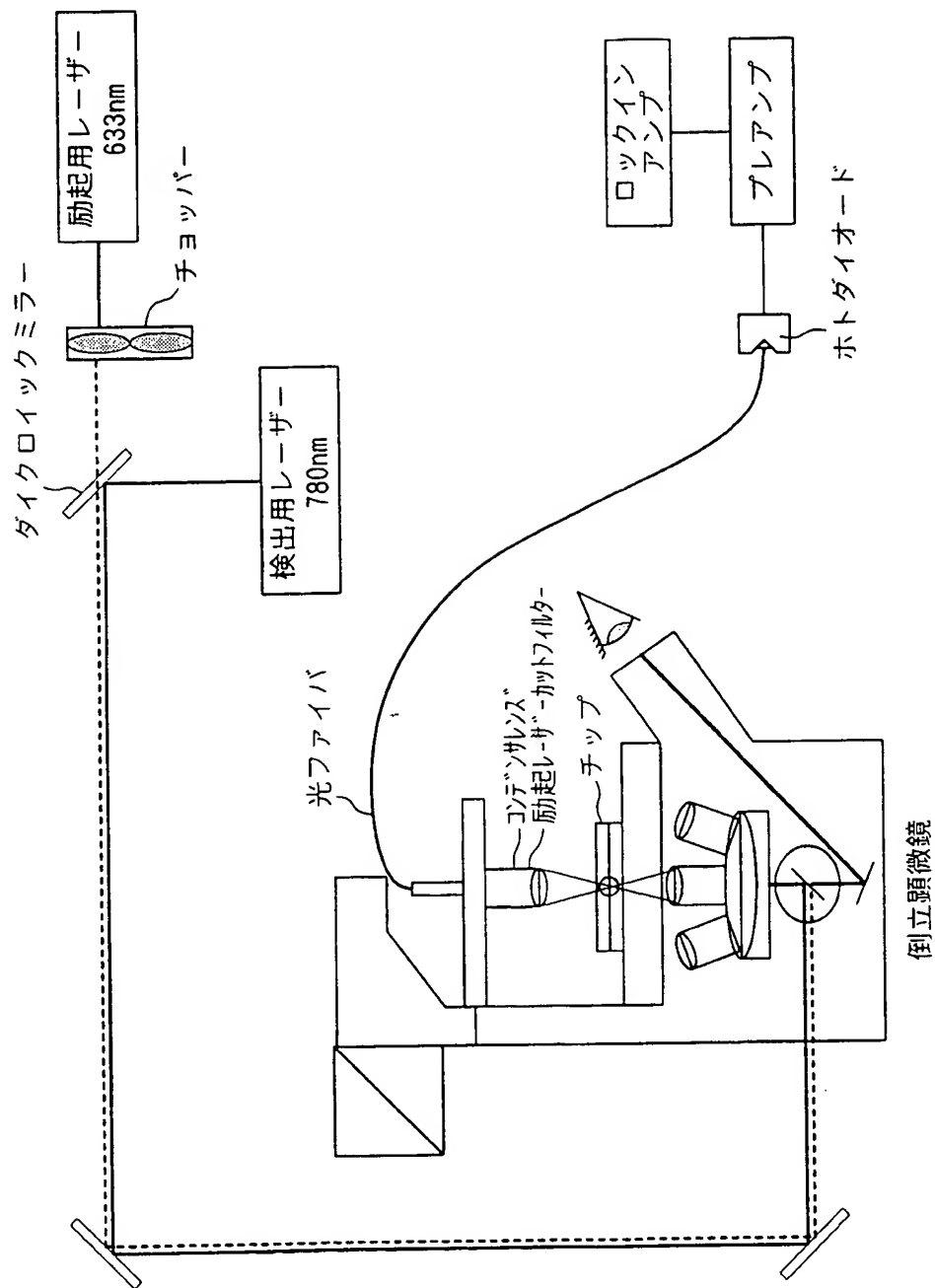
第19図



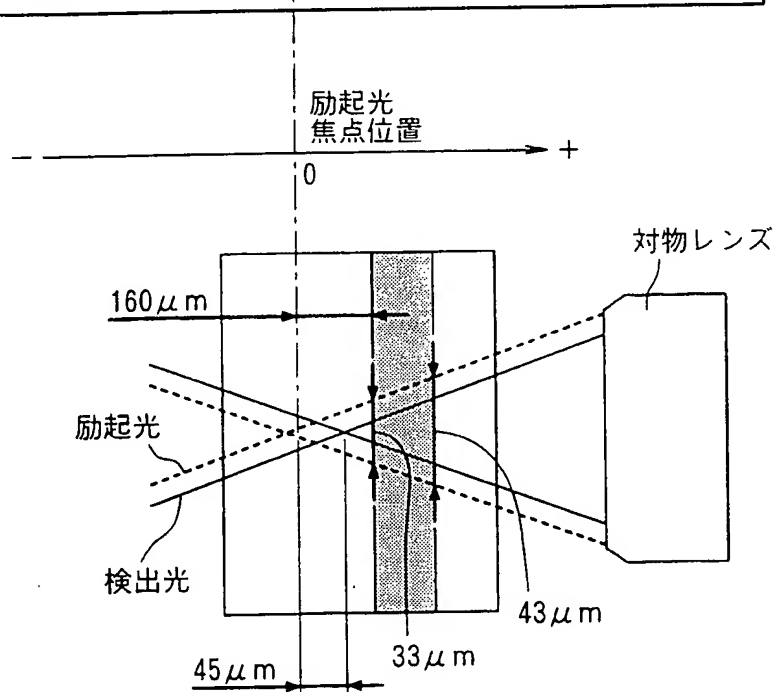
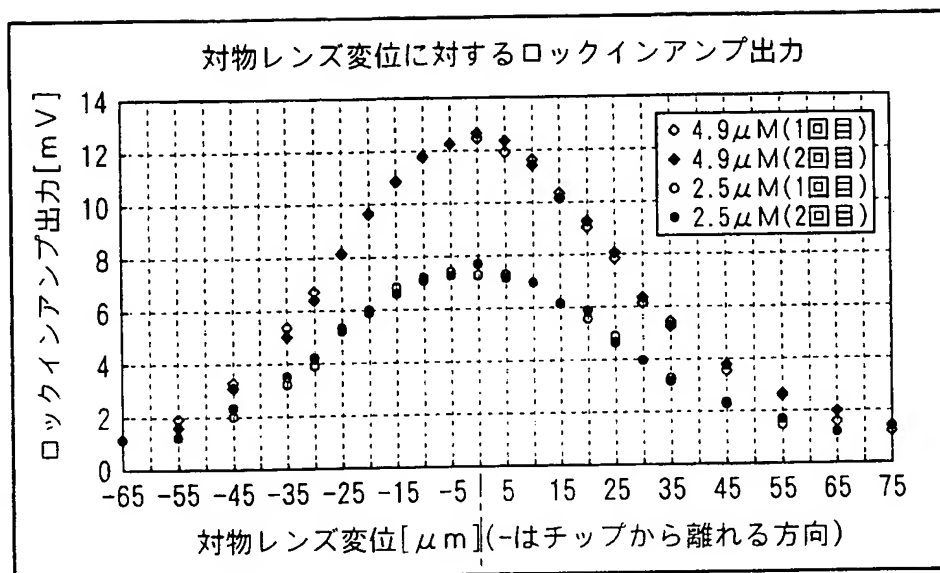
第20図



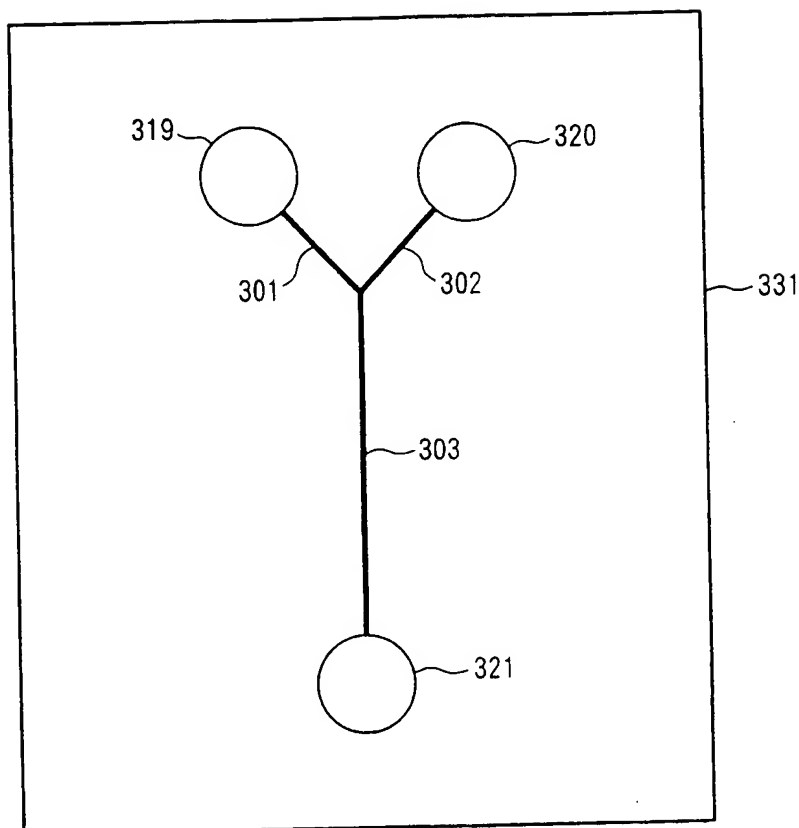
第21図



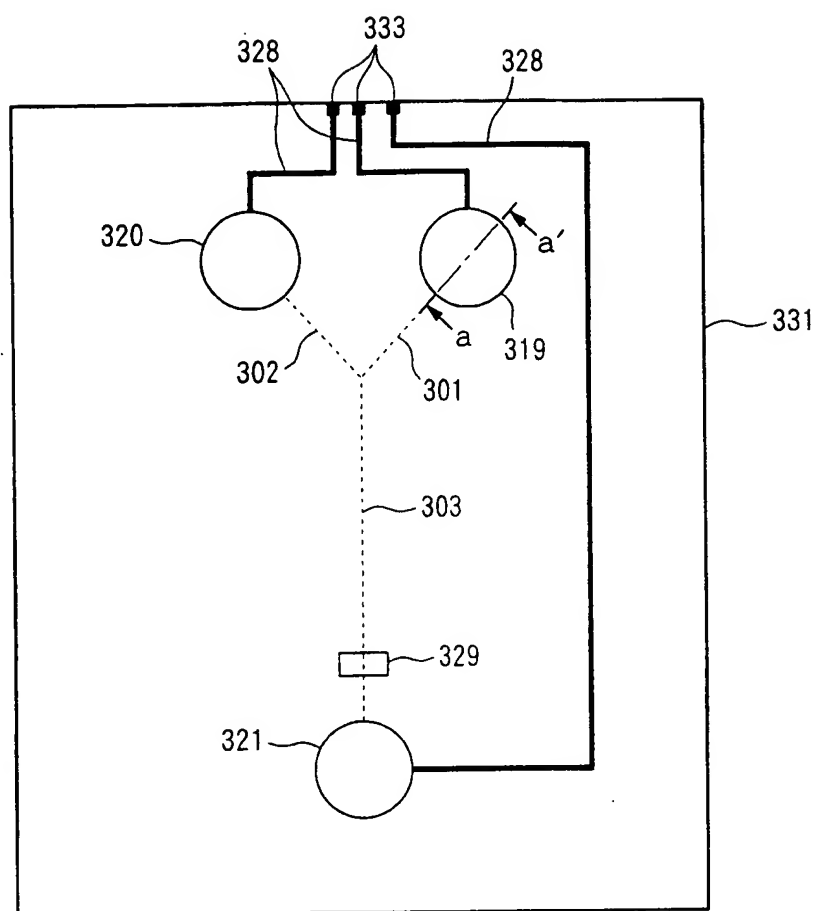
第22図



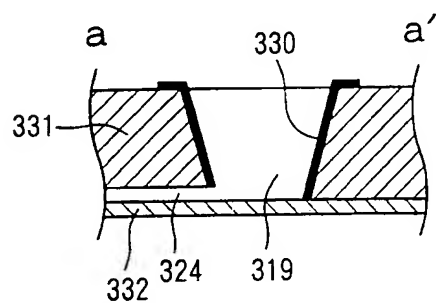
第23図



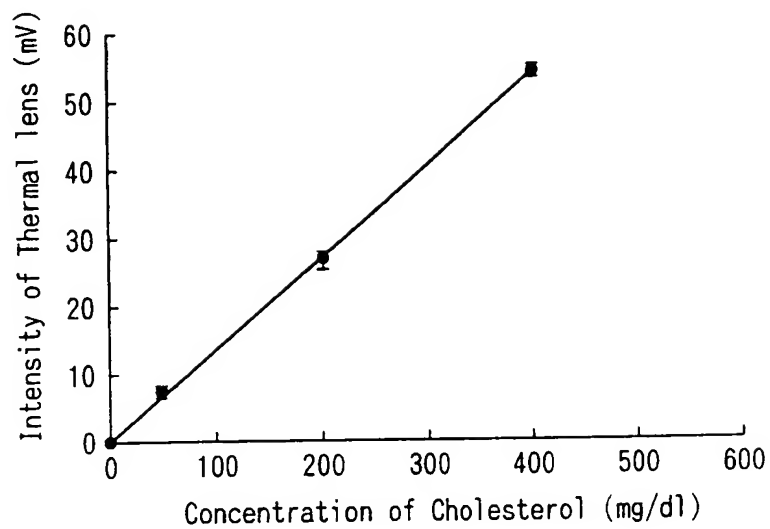
第24図



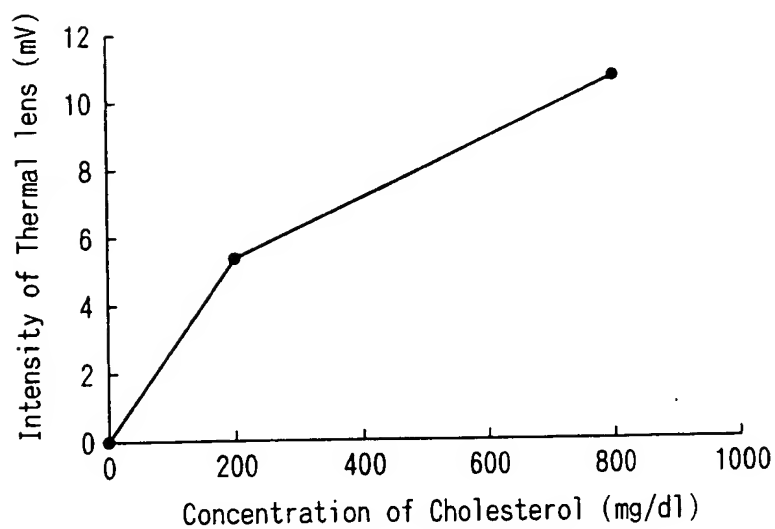
第25図



第26図



第27図



INTERNATIONAL SEARCH REPORT

 International application No.
 PCT/JP99/03158

 A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER
 Int.Cl⁶ G01N25/16, G01N27/447

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

 Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)
 Int.Cl⁶ G01N25/00-25/72, G01N27/447

 Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched
 Jitsuyo Shinan Koho 1922-1996 Toroku Jitsuyo Shinan Koho 1994-1999
 Kokai Jitsuyo Shinan Koho 1971-1999 Jitsuyo Shinan Toroku Koho 1996-1999

 Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)
 JICST File (JOIS)

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	JP, 10-142177, A (Laboratory of Molecular Biophotonics), 29 May, 1998 (29. 05. 98) (Family: none) Full text ; Fig. 2	1-6 8-11
A	Full text ; Fig. 2	7, 12 13
Y	JP, 5-504628, A (Soane Technologies, Inc.), 15 July, 1993 (15. 07. 93) & WO, 9112904, A & AU, 9174675, A & US, 5126022, A & EP, 521911, A1 & AU, 637895, B & JP, 8-327597, A & JP, 2601595, B2 Full text	1-6 8-11
Y	JP, 8-334505, A (Hewlett-Packard Co.), 17 December, 1996 (17. 12. 96) & EP, 708331, A1 & US, 5571410, A Full text	1-6 8-11

☒ Further documents are listed in the continuation of Box C. ☐ See patent family annex.

* Special categories of cited documents:	"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance	"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
"E" earlier document but published on or after the international filing date	"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art
"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)	"&" document member of the same patent family
"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means	
"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed	

 Date of the actual completion of the international search
 2 September, 1999 (02. 09. 99)

 Date of mailing of the international search report
 14 September, 1999 (14. 09. 99)

 Name and mailing address of the ISA/
 Japanese Patent Office

Authorized officer

Facsimile No.

Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP99/03158

C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	L.C. Waters, S.C. Jacobson, N.Kroutchinina, J.Khandurina, R.S. Foote, J.M. Ramsey, "Microchip Device for Cell Lysis, Multiplex PCR Amplification, and Electrophoretic Sizing" Anal. Chem, 70, 158-162, January 1998 Full text ; Fig. 1	8-11

A. 発明の属する分野の分類 (国際特許分類 (IPC))
Int. Cl.⁸ G 01 N 25/16, G 01 N 27/447

B. 調査を行った分野

調査を行った最小限資料 (国際特許分類 (IPC))
Int. Cl.⁸ G 01 N 25/00-25/72, G 01 N 27/447

最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの

日本国実用新案公報 1922-1996年
日本国公開実用新案公報 1971-1999年
日本国登録実用新案公報 1994-1999年
日本国実用新案登録公報 1996-1999年

国際調査で使用した電子データベース (データベースの名称、調査に使用した用語)
JICSTファイル (JOIS)

C. 関連すると認められる文献

引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
Y	J P, 10-142177, A (株式会社分子バイオテクノス研究所)、29. 5月. 1998 (29. 05. 98) (ファミリーなし) 全文、図2	1-6 8-11 7, 12 、13
A	全文、図2	

☒ C欄の続きにも文献が列挙されている。

☐ パテントファミリーに関する別紙を参照。

* 引用文献のカテゴリー

「A」 特に関連のある文献ではなく、一般的技術水準を示すもの
「E」 国際出願日前の出願または特許であるが、国際出願日以後に公表されたもの
「L」 優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献 (理由を付す)
「O」 口頭による開示、使用、展示等に言及する文献
「P」 国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願

の日の後に公表された文献

「T」 国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と矛盾するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの
「X」 特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの
「Y」 特に関連のある文献であって、当該文献と他の1以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの
「&」 同一パテントファミリー文献

国際調査を完了した日

02. 09. 99

国際調査報告の発送日

14.09.99

国際調査機関の名称及びあて先

日本国特許庁 (ISA/J P)
郵便番号 100-8915
東京都千代田区霞が関三丁目4番3号

特許庁審査官 (権限のある職員)

野村 伸雄

2 J 9311

電話番号 03-3581-1101 内線 3252

C (続き) . 関連すると認められる文献		
引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
Y	JP、5-504628、A (ソーン テクノロジーズ、インコー ポレイテッド)、15. 7月. 1993 (15. 07. 93) &WO、9112904、A & AU、9174675、A &US、5126022、A & EP、521911、A1 &AU、637895、B & JP、8-327597、A &JP、2601595、B2 全文	1-6 8-11
Y	JP、8-334505、A (ヒューレッド・パッカード・カンパ ニー)、17. 12月. 1996 (17. 12. 96) &EP、708331、A1 & US、5571410、A 全文	1-6 8-11
Y	L. C. Waters, S. C. Jacobson, N. Kroutchinina, J. Khandurina, R. S. Foote, J. M. Ramsey, " Microchip Device for Cell Lysis, Multiplex PCR Amplification, and Electrophoretic Sizing" Anal. Chem, 70, 158-162, January 1998 全文、図1	8-11